



HAL
open science

Épilepsie associée aux gliomes cérébraux : revue générale et identification expérimentale de mécanismes de déclenchement des crises

Éléonore Guinard

► **To cite this version:**

Éléonore Guinard. Épilepsie associée aux gliomes cérébraux : revue générale et identification expérimentale de mécanismes de déclenchement des crises. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03465115

HAL Id: dumas-03465115

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03465115>

Submitted on 3 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2 - L 335.10

UNIVERSITÉ DE PARIS

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2020

N° 35

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : 02 septembre 2020

Par

Eléonore Guinard

**Épilepsie associée aux gliomes cérébraux : Revue générale et
identification expérimentale de mécanismes de déclenchement des
crises**

Dirigée par M. le Docteur Gilles Huberfeld

JURY

Mme la Professeure Martine Gavaret, PU-PH

Présidente

M. le Docteur Gilles Huberfeld

Directeur

M. le Professeur Johan Pallud, PU-PH

Membre du jury

M. le Professeur Lionel Naccache, PU-PH

Membre du jury

M. le Docteur Pierre Bourdillon

Membre du jury

Remerciements

Je remercie le Pr Martine GAVARET de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie de m'accueillir au sein de votre équipe pour les prochaines années, votre pédagogie et votre incitation permanente à la pratique et à la formation sont particulièrement stimulants.

Je remercie chaleureusement le Dr Gilles HUBERFELD de m'avoir encadrée pendant mon année de Master puis de Thèse d'exercice. Tu m'as guidé tout au long de mon internat, tes enseignements et tes conseils ont été précieux. Tu as grandement contribué à ma vocation d'exercer dans les domaines de la neurophysiologie et de l'épileptologie.

Je remercie le Pr Johan PALLUD pour son aide et sa disponibilité. Tu as bien facilité mes recherches bibliographiques. Avec le Dr Laurent CAPELLE, que je remercie également, ainsi que l'ensemble de vos patients, vous avez permis la réalisation de ce projet.

Je remercie le Pr Lionel NACCACHE. Grâce à vous, j'ai découvert l'EEG et j'ai rencontré Gilles, deux éléments déterminants de mon orientation professionnelle.

Je remercie le Dr Pierre BOURDILLON d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Je garde un excellent souvenir de notre collaboration à la Fondation Rothschild et de vos avis bienveillants et riches d'enseignements.

Je remercie le Dr Nathalie ROUACH de m'avoir accueillie dans son laboratoire au Collège de France pendant toute mon année de Master, et son équipe pour l'environnement de travail motivant et agréable.

Je remercie Estelle, Laetitia et Chloé pour leur amitié, leurs conseils et leur soutien durant ces années de médecine et d'internat.

Je remercie la Fondation pour la Recherche Médicale qui a permis le financement de ce projet (DEA 41562).

A Antonin, Léopoldine et Numérobis

SOMMAIRE

1. INTRODUCTION	3
1.1. Gliomes cérébraux : un modèle de lésion épileptogène	3
1.1.1. Généralités.....	3
1.1.1.1. Classification histologique et génétique.....	3
1.1.1.2. Épidémiologie.....	10
1.1.1.3. Facteurs étiologiques et facteurs de risque.....	11
1.1.1.4. Histoire naturelle.....	12
1.1.2. Épileptogénicité des gliomes.....	15
1.1.2.1. Généralités.....	15
1.1.2.2. Sémiologie épileptique.....	17
1.1.2.3. Prévalence de l'épilepsie à chaque phase évolutive.....	18
1.1.2.4. Marqueurs prédictifs de l'épilepsie.....	19
1.2. Genèse des activités épileptiques	21
1.2.1. Introduction : Épileptogénèse vs. Ictogénèse.....	21
1.2.2. Mécanismes généraux de l'épileptogénèse.....	22
1.2.2.1. Timing de l'épileptogénèse.....	22
1.2.2.2. Effets du processus tumoral sur l'épileptogénèse.....	22
1.2.2.3. Perturbation des propriétés neuronales intrinsèques, de l'excitabilité des canaux ioniques.....	25
1.2.2.4. Perturbations des connexions synaptiques.....	26
1.2.2.5. Oscillations à haute fréquence (HFO) et ondes lentes de dépolarisation corticale....	33
1.2.2.6. Perturbations gliales astrocytaires.....	34
1.2.2.7. Autres (angiogénèse, microglie, immunité).....	35
1.2.3. Mécanismes d'ictogénèse.....	36
1.2.3.1. Neurotransmission et genèse des crises épileptiques.....	37
1.2.3.2. Mécanismes ioniques.....	44
1.2.3.3. Rôle de l'espace extracellulaire et des champs électriques.....	45
1.2.3.4. Implication des astrocytes.....	46
2. PROJET D'ETUDE	47
3. MATERIEL ET METHODES	49
3.1. Patients	49
3.2. Recueil et préparation des tissus (Dossi et al. 2014)	50
3.4. Analyse des données	53
4. RESULTATS	54
4.1. Données générales sur les activités ictales	54
4.2. Modulation pharmacologique de KCC2	56
4.2.1. Blocage de l'activité de KCC2.....	56

4.2.2. Renforcement de l'activité de KCC2	58
4.3. Modulation pharmacologique de NKCC1	59
4.4. Modulation pharmacologique des récepteurs NMDA.....	60
5. DISCUSSION	61
6. CONCLUSION.....	71
BIBLIOGRAPHIE	72
Liste des abréviations	82
Table des figures.....	83
Table des tableaux	84

1. INTRODUCTION

1.1. Gliomes cérébraux : un modèle de lésion épileptogène

1.1.1. Généralités

1.1.1.1. Classification histologique et génétique

Les tumeurs cérébrales constituent un groupe hétérogène : elles peuvent être bénignes ou malignes – selon leur vitesse de croissance et leur invasivité, sont issues de types cellulaires divers et peuvent être d'origine cérébrale (tumeurs primitives) ou extra-cérébrale (métastases). Les gliomes diffus sont les tumeurs intracrâniennes primitives les plus fréquentes, représentant entre 72 et 81% des tumeurs cérébrales malignes primitives (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019). Ils se développent aux dépens des cellules gliales et peuvent être d'origine astrocytaire, oligodendrocytaire, ou mixte. La classification OMS de ces tumeurs, révisée en 2016 (Louis et al. 2016), a intégré les données phénotypiques et génotypiques afin de caractériser des entités biologiquement plus homogènes et plus étroitement définies dans le but d'améliorer la précision diagnostique et, par conséquent, la prise en charge des patients, le pronostic et la réponse aux traitements (Tab. 1). Elle rassemble sous le terme de gliome diffus les astrocytomes de grade II et III, les oligodendrogliomes de grade II et III, les oligoastrocytomes, et les glioblastomes qui constituent le grade IV. Ces tumeurs partagent un profil de croissance similaire, des caractéristiques phénotypiques, ainsi que des mutations sur les gènes codant pour l'enzyme isocitrate déshydrogénase (IDH), IDH1 et IDH2. Cette nouvelle classification exclut désormais des gliomes diffus les astrocytomes présentant un profil de croissance plus circonscrit, mutés sur les gènes BRAF ou TSC1/TSC2 mais sans mutation sur les gènes IDH, tels que les astrocytomes pilocytiques (Louis et al. 2007). La gliomatose cérébrale a également été retirée de la classification de 2016 et classée comme une entité distincte (Louis et al. 2016).

Tableau 1 – La classification 2016 des gliomes diffus de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) d'après Louis et al. 2016

Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3
<i>Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9400/3
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3
<i>Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9401/3
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
<i>Epithelioid glioblastoma</i>	9440/3
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*
Glioblastoma, NOS	9440/3
Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant	9385/3*
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3
Oligodendroglioma, NOS	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3
<i>Anaplastic oligodendroglioma, NOS</i>	9451/3
<i>Oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3
<i>Anaplastic oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3

Les astrocytomes diffus de grade II et les astrocytomes anaplasiques de grade III sont divisés en astrocytomes IDH muté (*IDH-mutant*), IDH sauvage (*IDH-wildtype*), et non spécifié (*not otherwise specified/NOS*). La grande majorité de ces tumeurs appartient à la catégorie IDH muté dont le pronostic est plus favorable. Les glioblastomes sont également répartis entre les glioblastomes IDH sauvage, IDH muté et non spécifié. Les glioblastomes IDH sauvage représentent 90% des cas et correspondent à des glioblastomes *de novo* diagnostiqués chez des patients âgés de plus de 55 ans. Les glioblastomes IDH muté correspondent aux glioblastomes secondaires avec une histoire préalable de gliome diffus de bas grade, survenant généralement chez des patients plus jeunes. Enfin la catégorie des glioblastomes *NOS* doit être réservée aux tumeurs dont le statut IDH n'a pas pu être évalué parfaitement. Les oligodendrogliomes et oligodendrogliomes anaplasiques sont, quant à eux, caractérisés par la présence concomitante d'une mutation IDH et d'une co-délétion 1p/19q. Le diagnostic d'oligoastrocytome, dont l'origine gliale serait mixte astrocytaire et oligodendrocytaire, est désormais très limité. En

effet, la majorité des entités présentant des caractéristiques histologiques à la fois astrocytaire et oligodendrocytaire peut être classée soit comme astrocytome, soit comme oligodendrogliome grâce à la génétique. Ce diagnostic de tumeur d'origine gliale mixte *NOS* est à présent réservé aux tumeurs imparfaitement explorées sur le plan moléculaire (Louis et al. 2016).

Les grades sont essentiellement définis selon le degré de malignité des tumeurs. Le grade I rassemble les lésions tumorales bénignes, circonscrites, et à croissance lente dont l'exérèse chirurgicale complète permet la guérison. Le grade II caractérise les tumeurs infiltrantes de bas grade, avec des atypies cellulaires, à croissance lente, ayant tendance à récidiver après traitement chirurgical (médiane de survie ~ 12 ans). Le grade III correspond à des tumeurs malignes, anaplasiques, avec une activité mitotique, et nécessitant des traitements agressifs (médiane de survie ~ 3,5 ans). Enfin le grade IV est défini par des tumeurs malignes, infiltrantes, d'évolution rapidement fatale (médiane de survie : 14 à 17 mois), présentant une croissance rapide, une néoangiogenèse, et une tendance à la nécrose (Adam et Mokhtari, 2011; Huberfeld et Pallud, 2015; Louis et al., 2007; Molinaro, et al., 2019) (Tab. 2 et 3, Fig. 1).

Tableau 2 – La gradation des gliomes diffus selon l'OMS 2016 d'après Louis et al. 2016.

Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	II
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	III
Glioblastoma, IDH-wildtype	IV
Glioblastoma, IDH-mutant	IV
Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant	IV
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	II
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	III

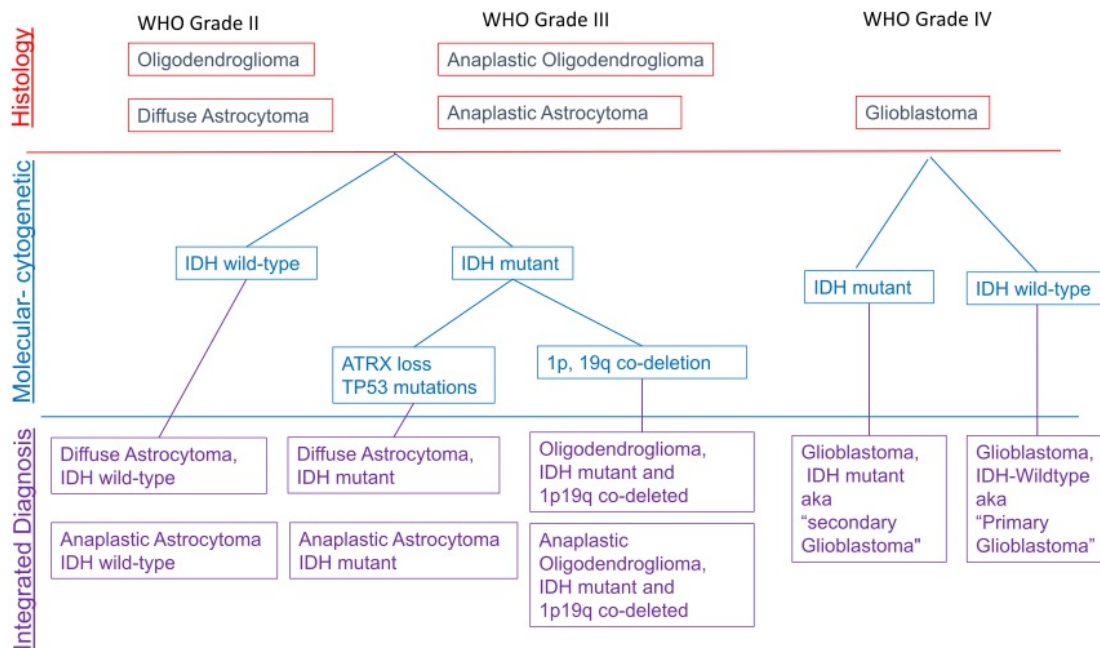


Figure 1 – Classification OMS des gliomes diffus intégrant les données histopathologiques et moléculaires d’après Torres et al. 2019.

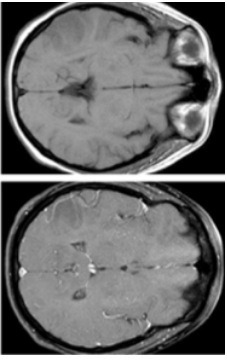
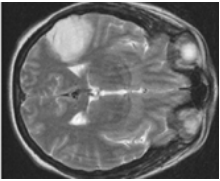
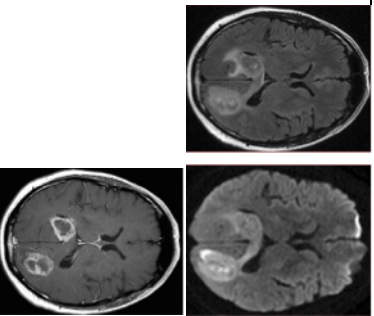
La classification OMS ne tient cependant pas compte de l’imagerie ni de l’hétérogénéité tumorale, ce qui peut impacter sa reproductibilité. Dans ce contexte, une autre classification des gliomes diffus a été proposée en 2000 par le Dr Daumas-Duport : la classification de l’hôpital Sainte-Anne (Daumas-Duport et al. 2000) qui établit une corrélation entre les données histologiques, obtenues à partir de biopsies étagées et les données de l’imagerie, cette dernière permettant d’avoir une approche macroscopique. Elle permet ainsi de mieux définir la structure spatiale de la tumeur et d’en préciser le profil de croissance. Les auteurs définissent trois types de structure : solide, infiltrant ou mixte. En effet, les gliomes sont constitués de deux éléments : la tumeur solide, comportant uniquement des cellules gliomateuses, et des cellules tumorales isolées, infiltrant le parenchyme cérébral avoisinant. Une structure solide est associée à une néoangiogenèse révélée à l’imagerie sous la forme d’une prise de contraste, tandis qu’une structure infiltrante en est dépourvue. Sur la base de la présence ou non de ces éléments, la classification définit quatre catégories : les oligodendrogliomes de grade A ou B, les oligoastrocytomes de grade A ou B, les glioblastomes et les tumeurs glio-neurales malignes. Le grade A est caractérisé par l’absence de microangiogenèse et de prise de contraste, au contraire du grade B pour lequel ces deux critères sont mis en évidence. Les marqueurs

moléculaires n'ont donc pas de place dans cette classification. Bien qu'elle soit plus facilement applicable et reproductible, la classification de l'hôpital Sainte-Anne n'est utilisée qu'en France. Elle présente par ailleurs certaines limites. Tout d'abord, elle impose la réalisation d'une IRM cérébrale. Elle est parfaitement adaptée pour les tumeurs hémisphériques mais nettement moins pour les tumeurs du tronc cérébral pour lesquelles la faible taille des biopsies peut être un obstacle pour définir précisément les caractéristiques histologiques. Enfin, elle n'a pas été validée par un comité scientifique international.

Tableau 3 - Principales caractéristiques des gliomes cérébraux. Épidémiologie et pronostic aux États-Unis d'après Ostrom et al. 2014. Histologie d'après la classification OMS 2000. Aspect en IRM d'après Meder 2016, Grand 2019 et Naugle et al. 2004.

Tumeur	Incidence (/100 000)	Pronostic Survie à 5 ans (%)	Aspect en IRM	Histologie	Marqueurs moléculaires	Principes du traitement
Astrocytomes (grade II)	0,10	47,30	Limites nettes Hypersignal homogène en FLAIR/T2 Hypo- ou isosignal T1 Pas de réhaussement	Différenciation élevée Densité cellulaire modérée Atypies cytonucléaires occasionnelles Activité mitotique < 1 mitose Absence de nécrose Absence de prolifération capillaire	IDH sauvage/muté/NOS	Chirurgie suprarnaximale Radiothérapie Chimiothérapie
Astrocytomes anaplastiques (grade III)	0,37	26,50	Signal hétérogène Hypersignal en FLAIR/T2 Zones de réhaussement	Anaplasie focale ou dispersée Densité cellulaire augmentée Atypies cytonucléaires présentes Activité mitotique présente Absence de nécrose Absence de prolifération capillaire		
Oligodendrogliomes (grade II)	0,27	79,10	Limites floues Signal hétérogène en T1 et T2	Densité cellulaire modérée Atypies cytonucléaires possibles Activité mitotique occasionnelle Absence de nécrose Absence de prolifération capillaire	IDH muté/NOS Co-délétion 1p/19q	
Oligodendrogliomes anaplastiques (grade III)	0,11	50,70	Chute de signal focale en SWI	Anaplasie focale ou dispersée Densité cellulaire augmentée Atypies cytonucléaires possibles Activité mitotique possiblement forte Nécrose possible Prolifération capillaire possible		

Tableau 3 - Principales caractéristiques des gliomes cérébraux. Épidémiologie et pronostic aux États-Unis d'après Ostrom et al. 2014. Histologie d'après la classification OMS 2000. Aspect en IRM d'après Meder 2016 et Naugle et al. 2004.

Tumeur	Incidence (/100 000)	Pronostic Survie à 5 ans (%)	Aspect en IRM	Histologie	Marqueurs moléculaires	Principes du traitement
Oligastrocytomes (grade II)	0,20	61,00	<p>Hypersignal en FLAIR/T2</p> <p>Hyposignal T1</p> <p>Réhaussement dans 50 % des cas</p> 	<p>Différenciation élevée</p> <p>Densité cellulaire faible ou modérée</p> <p>Atypies cytonucléaires ?</p> <p>Activité mitotique absente ou faible</p> <p>Absence de nécrose</p> <p>Absence de prolifération capillaire</p>	NOS	Chirurgie supramaximale
				<p>Différenciation ?</p> <p>Densité cellulaire augmentée</p> <p>Atypies cytonucléaires possibles</p> <p>Activité mitotique possiblement forte</p> <p>Nécrose possible</p> <p>Prolifération capillaire possible</p>		
Oligastrocytomes (grade III)						
Glioblastomes (grade IV)	3,19	4,70	<p>Hypo- ou isosignal T1</p> <p>Hypersignal hétérogène en T2/FLAIR</p> <p>Nécrose en hypersignal T1 et hypersignal T2</p> <p>Réhaussement constant, épais, annulaire et irrégulier</p> <p>Zones hémorragiques en hypersignal T2*</p> 	<p>Différenciation faible</p> <p>Densité cellulaire élevée</p> <p>Atypies cytonucléaires marquées</p> <p>Activité mitotique élevée</p> <p>Présence de nécrose</p> <p>Présence de prolifération capillaire</p>	IDH sauvage/muté/NOS	Chimiothérapie Radiothérapie

NOS : Non spécifié.

1.1.1.2. Épidémiologie

L'incidence des gliomes varie selon les études de 4 à 6,8 cas pour 100 000 (Louis et al. 2016; Darlix et al. 2016; Molinaro et al. 2019). Ils représentent moins de 1 % de tous les cancers nouvellement diagnostiqués, environ 30 % de toutes les tumeurs du système nerveux central et plus de 80 % des tumeurs cérébrales malignes (Ostrom et al. 2018). Les taux d'incidence des gliomes varient selon le type histologique, l'âge, le sexe, le pays et l'ethnie.

Parmi les gliomes, les glioblastomes sont le type histologique le plus fréquemment retrouvé (45% à 75% des cas selon les études) avec une incidence de 0.59 à 3.69 pour 100 000. Le pronostic est le plus sombre : la survie à 5 ans est de 0.05 à 4.7% (Bush et al. 2017; Molinaro et al. 2019). L'âge médian au diagnostic des patients présentant un glioblastome IDH sauvage est de 59 ans. Pour ces patients, la médiane de survie après traitement par chirurgie et radiochimiothérapie est de 14,4 mois. Les patients présentant un glioblastome avec une mutation IDH ont des caractéristiques particulières : ils sont plus jeunes, avec un âge médian au diagnostic de 38 ans, et ont une médiane de survie plus importante de 3,6 ans (Molinaro et al. 2019).

Les gliomes de grade II sont moins fréquents avec une incidence de l'ordre de 1 pour 100 000 (Rigau et al. 2011). L'âge médian au diagnostic est de 52 ans pour les astrocytomes IDH sauvage de grade II et III, et la médiane de survie de 22,8 mois. En revanche les astrocytomes comportant une mutation IDH affectent des patients plus jeunes, avec un âge médian au diagnostic de 36 ans, et sont caractérisés par une médiane de survie plus importante de 9,3 ans. Les patients présentant un oligodendrogliome avec une mutation IDH et une co-délétion 1p/19q ont un âge médian au diagnostic de 44 ans et ont le meilleur pronostic avec une médiane de survie de 17,5 ans (Molinaro et al. 2019). Dans la cohorte française décrite par Van Den Bent et al., la survie médiane sans progression était de 7,8 mois chez les patients présentant un oligodendrogliome non muté pour IDH1 *versus* 50 mois pour ceux muté sur IDH1. Le taux de survie globale à 2 ans était de 37 % dans le premier groupe contre 83% dans le deuxième (Van Den Bent et al. 2010).

Dans les cohortes américaines rapportées par Chen et al., la mutation IDH est retrouvée dans 80,5% des cas de gliomes de grades II, dans 54,7% des cas des gliomes de grade III et dans 8,9% des grades IV quel que soit le type histologique. Elle est associée à une augmentation du risque de survenue de crises d'épilepsie : 18 à 34% des patients présentant un gliome non muté présentaient des crises avant la chirurgie contre 59 à 74% de ceux présentant un gliome avec une mutation sur IDH1 (Chen et al. 2017).

L'incidence des astrocytomes augmente avec l'âge, avec un pic entre 75 et 84 ans. Les oligodendrogliomes sont plus fréquents entre 35 et 44 ans. Quel que soit l'âge, les gliomes surviennent davantage chez les hommes que chez les femmes (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019). Dans les pays développés, l'incidence des gliomes chez les adultes est globalement stable. En revanche, elle a légèrement augmenté chez les enfants (Bauchet et Ostrom 2019). Les taux d'incidence des gliomes diffus sont significativement plus élevés dans les pays dont la population est à prédominance caucasienne (7,8 pour 100 000 aux États-Unis) que dans ceux dont la population est à prédominance asiatique (1,9 en Asie du Sud-Est) ou africaine. Ces différences ne peuvent pas être expliquées uniquement par les différences d'accès aux soins médicaux. Par exemple, l'incidence est de 8,5 pour 100 000 en Europe de l'Ouest contre 1,9 au Japon. Ces différences suggèrent l'implication de facteurs ethniques, culturels et environnementaux (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019).

1.1.1.3. Facteurs étiologiques et facteurs de risque

La grande hétérogénéité des gliomes diffus en termes de type histologique, de grade, de pronostic et de biologie moléculaire complexifie la recherche de facteurs de risque (Ostrom et al. 2018).

Plusieurs syndromes génétiques de prédisposition aux cancers – i.e. syndrome de Lynch, syndrome de Li-Fraumeni, neurofibromatose de type 1 et 2, sclérose tubéreuse de Bourneville, syndrome mélanome-tumeur du système nerveux, maladie d'Ollier – sont associés à un risque accru de gliome (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019). Cependant ils ne concernent qu'une faible proportion de patients (environ 5%), chez qui l'histoire naturelle de la maladie pourrait différer de celle des gliomes spontanés. Des études ont montré qu'un modèle polygénique explique davantage la distribution des gliomes chez l'adulte. Parmi cette large majorité de patients sans syndrome de prédisposition aux cancers, 5 à 10 % ont des antécédents familiaux de gliome. Ainsi, les apparentés au premier degré ont un risque multiplié par 2 à 3 de développer une tumeur primitive cérébrale (Molinaro et al. 2019). Il est possible que dans ces agrégats familiaux de gliomes les patients partagent des facteurs de risque génétiques et/ou environnementaux (Ostrom et al. 2018; Molinaro et al. 2019).

Le seul facteur de risque environnemental formellement identifié est l'exposition aux radiations ionisantes, en particulier dans l'enfance, qu'elle soit à des doses thérapeutiques ou à hautes doses. Elles vont générer des dommages sur l'ADN par le biais de cassures simple ou double-brin. Le développement d'un gliome peut survenir rapidement, entre 7 et 9 ans après

l'irradiation (Ostrom et al. 2018). L'effet de l'exposition aux rayonnements ionisants lors d'actes diagnostiques (i.e. scanner et radiographie) reste difficile à déterminer (Bauchet and Ostrom 2019).

Une possible association avec l'exposition aux champs magnétiques de très basse fréquence et avec les pesticides nécessite encore d'être définitivement validée. Le téléphone portable n'est pas un facteur de risque formel mais reste néanmoins très étudié du fait de la période de latence, dont la durée est encore inconnue, et du manque de recul sur les conséquences d'une utilisation massive et à long terme (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019), d'autant plus que les téléphones sont désormais utilisés plus tôt au cours de la vie (Bauchet et Ostrom 2019).

Les études épidémiologiques ont permis de mettre en évidence un seul facteur protecteur : le terrain atopique. Une méta-analyse a ainsi montré une diminution du risque de gliome de près de 40% chez les patients ayant des antécédents d'allergies (asthme, rhinite allergique, eczéma, allergies alimentaires), soulevant des questions immunitaires (Ostrom et al. 2014; Molinaro et al. 2019). Plusieurs hypothèses ont été avancées : une augmentation de la surveillance par le système de l'immunité innée, une similitude entre les anticorps dirigés contre les allergènes et les antigènes des tumeurs cérébrales, ou encore une plus grande efficacité de la réponse aux carcinogènes environnementaux (Bauchet et Ostrom 2019).

1.1.1.4. Histoire naturelle

Les gliomes diffus de bas grade se caractérisent par une croissance lente. En revanche, ils présentent une infiltration extensive dans le tissu péritumoral qui est sous-estimée en IRM (Pallud et al. 2010). Au cours de leur évolution, les gliomes vont progressivement interférer avec le fonctionnement normal du cerveau en interrompant les connexions fonctionnelles des réseaux neuronaux au sein du cortex péritumoral mais aussi avec des régions cérébrales à distance, ce qui favorise la survenue d'activités épileptiques. Par ailleurs, la croissance lente des gliomes diffus de bas grade permet la mise en place de mécanismes d'adaptation au sein du cortex péritumoral avec une réorganisation morphologique et fonctionnelle. Ainsi, les déficits neurologiques sont rares au moment du diagnostic. Cependant, la plasticité des structures sous-corticales est inférieure à celle du cortex. Dans ce contexte, les patients qui présentent une infiltration à ce niveau ont plus de risques de développer précocement des symptômes déficitaires en lien avec la localisation de la tumeur : de l'altération cognitive discrète au déficit neurologique focal (Smits et Jakola 2018).

L'évolution naturelle des gliomes diffus de bas grade s'effectue en deux phases principales : une première période au cours de laquelle la tumeur devient visible radiologiquement et s'exprime cliniquement, habituellement par une épilepsie. Sa croissance est lente, avec une vitesse d'expansion diamétrique inférieure à 4 mm par an. Puis une deuxième période survient après 7 à 8 ans d'évolution, caractérisée par la transformation de la lésion en tumeur de haut grade et une augmentation de la vitesse de croissance, supérieure à 8 mm/an, atteignant volontiers 50 mm par an (Pallud et al. 2014) (Fig. 2).

Environ 3 à 10 % des gliomes de bas grade sont découverts fortuitement sur un examen d'imagerie réalisé pour explorer des symptômes sans lien avec la tumeur. En général, ces tumeurs sont plus petites en volume et n'impliquent pas de régions éloquentes. Cependant, elles présentent la même dynamique de croissance que les gliomes symptomatiques. De fait, une simple surveillance clinique est inadéquate : elles doivent bénéficier d'un traitement maximal d'emblée (Smits et Jakola 2018).

A ce jour, le traitement neurochirurgical de référence consiste en une chirurgie éveillée permettant une résection supra-maximale de la tumeur. Les limites de l'exérèse sont définies grâce à une cartographie fonctionnelle établies par électrostimulation directe corticale et sous-corticale per-opératoire alors que le patient effectue simultanément différents tests en rapport avec les aires cérébrales impliquées (langage, calcul, *etc.*) (Huberfeld et al. 2017). Une méta-analyse internationale prenant en compte 8091 gliomes a pu montrer que l'attitude chirurgicale d'une résection étendue guidée sur la fonction cartographiée par électrostimulation améliorerait le taux de résection (75 % vs. 58 %) mais réduisait également le taux de déficit neurologique post-opératoire (3,4 % vs. 8,2 %) (De Witt Hamer et al. 2012). L'étendue de la résection est un facteur majeur influençant la survie sans transformation maligne et la survie globale des gliomes de bas grade (Pallud et al. 2014). Les gyri et les sillons sont préalablement identifiés en utilisant la neuronavigation basée sur l'IRM et l'échographie per-opératoire (Pallud et Dezamis 2017). La chimiothérapie de première ligne sera quant à elle le témozolomide ou une association procarbazine et vincristine dont le choix est défini selon les caractéristiques de la tumeur.

L'impact des traitements sur la croissance tumorale est bien connu. Le traitement chirurgical permet une cytoréduction mais ne va pas influencer sur la vitesse de croissance de la tumeur. La radiothérapie et la chimiothérapie ne vont pouvoir ralentir que transitoirement sa croissance : après une phase de réduction de la vitesse de croissance, la plupart des tumeurs progressent à nouveau selon leur dynamique initiale à l'arrêt du témozolomide (TMZ) (Smits et Jakola 2018).

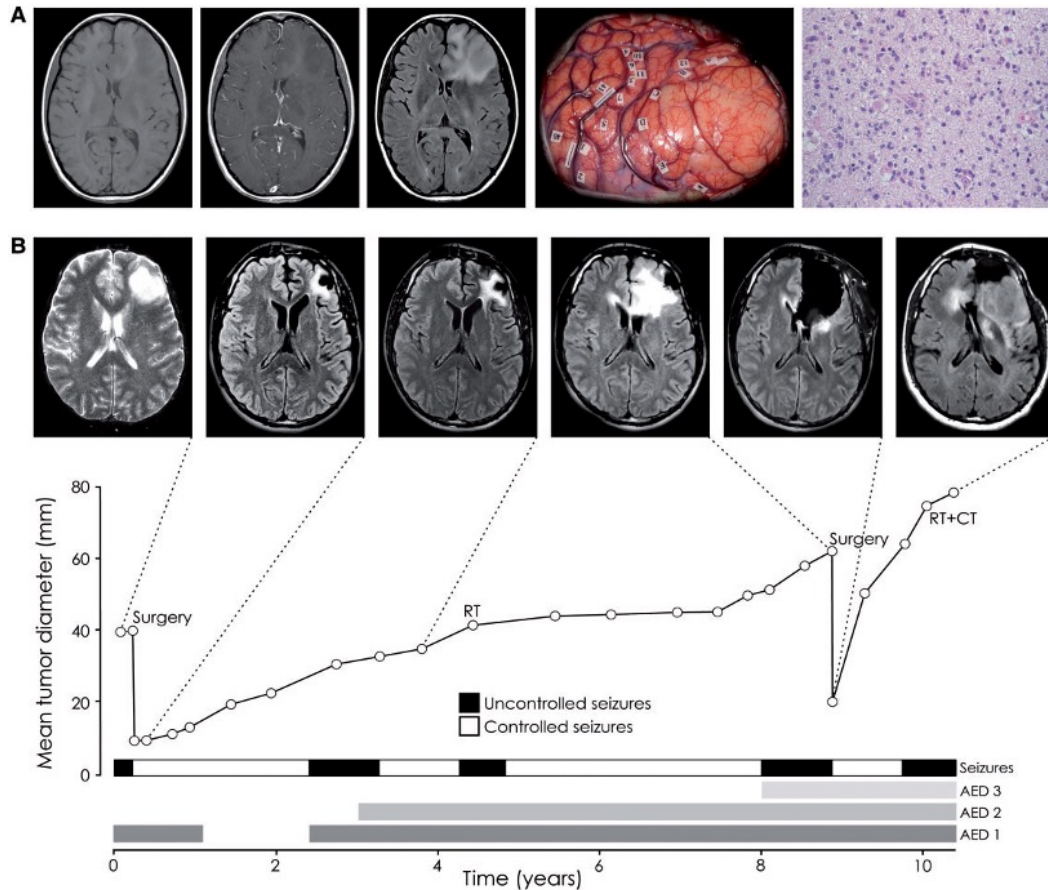


Figure 2 – Exemple d'évolution d'un gliome de bas grade frontal gauche, d'après Pallud et al. 2014. (A) Exemple d'un gliome diffus de bas grade (astrocytome de grade II). La tumeur apparaît en hyposignal T1, ne prenant pas le contraste, et en hypersignal FLAIR. Sur les photographies peropératoires, elle correspond à la zone plus pâle où les gyri sont hypertrophiés et infiltrés. L'examen anatomopathologique révèle une infiltration tumorale du cortex par des cellules tumorales isolées. (B) Exemple de l'évolution des crises épileptiques au cours de l'histoire naturelle d'un gliome diffus de bas-grade. L'évolution radiologique du diamètre de la tumeur est représentée au cours du temps. Un patient de 27 ans, droitier a présenté des crises focales simples contrôlées par un unique traitement anti-épileptique et une lésion frontale gauche ne prenant pas le contraste et grossissant spontanément sur les IRM successives (vitesse de croissance de 4,0 mm/an). Une résection chirurgicale subtotala a été réalisée et a confirmé le diagnostic d'un oligodendrogliome de grade II. Le traitement anti-épileptique a été arrêté environ 1 an après la chirurgie initiale. La tumeur résiduelle a progressé (vitesse de croissance de 7,8 mm/an) et les crises épileptiques ont récidivé 2 ans après la chirurgie, nécessitant la ré-introduction d'un traitement anti-épileptique. Une radiothérapie conformationnelle externe a été réalisée lors de la récurrence des crises 4 ans après la chirurgie, permettant un contrôle de l'épilepsie et de la tumeur à l'imagerie (vitesse de croissance de 0,2 mm/an) pendant plus de 3 ans. Par la suite, les crises épileptiques ont récidivé avec une progression concomitante à l'imagerie (vitesse de croissance de 8,3 mm/an). Les crises sont restées résistantes aux traitements malgré l'introduction d'un troisième médicament anti-épileptique. Une seconde chirurgie a été nécessaire pour les contrôler. Le patient a refusé tout autre traitement oncologique jusqu'à une nouvelle récurrence des crises associées à des troubles du langage et avec des signes d'une transformation maligne à l'imagerie (vitesse de croissance de 47,8 mm/an). Malgré des traitements agressifs associant une radiothérapie conformationnelle externe et une chimiothérapie concomitante et adjuvante par témozolomide, la tumeur a progressé. Le patient est décédé 10 ans après le diagnostic histopathologique.

La deuxième période correspondant à la transformation maligne de la tumeur est caractérisée par une progression clinique et radiologique pouvant survenir soit de manière simultanée, soit successivement. Ceci dicte les modalités de surveillance : à la fois clinique et radiologique, à intervalles réguliers rapprochés, afin de détecter précocement cette phase de progression tumorale dont le délai de survenue est extrêmement variable d'un individu à l'autre et dont le pronostic est très sombre. Les facteurs de risque d'une transformation maligne sont l'âge avancé, le sexe masculin, les localisations tumorales multiples, l'utilisation de la chimiothérapie seule, et la présence de résidu tumoral. Il apparaît crucial de pouvoir retarder cette phase ultime de progression des gliomes, ce que permettrait la résection chirurgicale supra-maximale, ainsi que l'association de la radiothérapie avec la chimiothérapie. Toutefois, le TMZ pourrait être à l'origine d'un phénotype fortement muté dans un sous-groupe de patients avec l'acquisition d'une résistance acquise au traitement (Smits et Jakola 2018).

1.1.2. Epileptogénicité des gliomes

1.1.2.1. Généralités

La Ligue Internationale Contre l'Épilepsie définit l'épilepsie comme une affection du cerveau répondant à l'un des critères suivants : 1) au moins deux crises non provoquées survenant à plus de 24 heures d'intervalle ; 2) une crise non provoquée (ou réflexe) et la probabilité de survenue de crises ultérieures au cours des 10 années suivantes similaire au risque général de récurrence (au moins 60 %) observé après deux crises non provoquées ; 3) diagnostic d'un syndrome épileptique (Fisher et al. 2014). Une épilepsie pharmacorésistante est, quant à elle, caractérisée par l'échec de 2 traitements anti-épileptiques bien tolérés, bien conduits, choisis de manière appropriée, en monothérapie ou en association (Kwan et al. 2010).

L'épilepsie est une comorbidité majeure des gliomes diffus. Son origine et ses mécanismes d'émergence sont multifactoriels : ils dépendent de la tumeur elle-même, de sa localisation, des modifications au sein du cortex péri-tumoral, mais probablement aussi de facteurs environnementaux (De Groot et al. 2012; Pallud et McKhann 2019). Plus de 50 % des patients présenteront au moins une crise au cours de l'évolution de la tumeur, et près de 30 % développeront une épilepsie tumorale, définie par la survenue de plusieurs crises. Au moins 10% des patients présenteront un *status epilepticus* avec des crises durant plus de 5 minutes ou survenant en salves sans reprise de la conscience (Chen et al. 2017).

Bien qu'elle soit un facteur protecteur de transformation maligne et qu'elle accroisse la survie globale (Fig. 3) (Pallud et al. 2014), elle altère significativement la qualité de vie des patients, d'une part en raison de la survenue imprévisible des crises, d'autre part en raison des troubles cognitifs induits par ces dernières et par les traitements anti-épileptiques. L'enjeu est important compte-tenu de la survie relativement prolongée des patients souffrant de gliomes de bas grade, d'autant plus que selon sa localisation, la tumeur en elle-même, la chirurgie et la radiothérapie peuvent également induire des troubles cognitifs (van Breemen et al. 2007; Pallud et al. 2014; Bush et al. 2017). Par ailleurs l'épilepsie et ses traitements pourraient influencer sur l'évolution des patients en raison de possible interactions avec les chimiothérapies et d'effets oncologiques directs. Il a ainsi été montré que la croissance tumorale induit la survenue de crises épileptiques et que les crises pourraient théoriquement favoriser la croissance de la tumeur (Pallud et al. 2019).

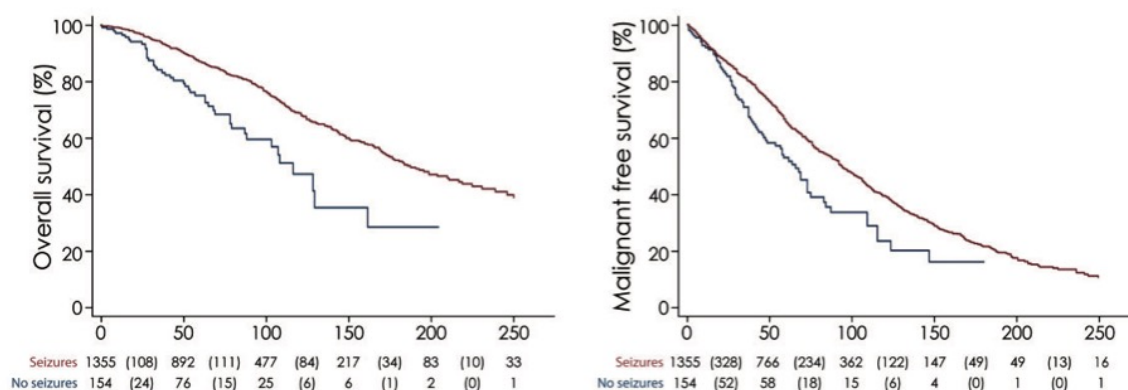


Figure 3 – Survie globale et survie sans progression maligne en fonction de la présence ou de l'absence d'épilepsie, d'après Pallud et al. 2014.

Enfin, la pratique clinique a montré que la récurrence de crises après une période initiale de contrôle de l'épilepsie, la survenue de crises d'une sémiologie différente, ou une augmentation de leur fréquence chez un patient suivi pour un gliome diffus peut être le signe d'une progression tumorale. La modification des crises épileptiques peut parfois même précéder la détection de la progression à l'imagerie (Pallud et al. 2019) et revêt donc un caractère pronostique. Paradoxalement, la présence de crises épileptiques au moment du diagnostic est associée à un meilleur pronostic (Pallud et al. 2014). Dans la cohorte de 1509 patients issue du Réseau d'Étude des Gliomes, la survie globale était d'environ 90 mois pour les patients

présentant un gliome de bas grade associé à des crises épileptiques au diagnostic contre 50 mois pour ceux qui n'en présentaient pas. De plus, la présence de crises au diagnostic était également associée à une amélioration de la survie sans progression vers la malignité (65 mois vs. 40 mois).

1.1.2.2. Sémiologie épileptique

Il n'y a pas de sémiologie spécifique des crises épileptiques en lien avec un gliome diffus. La présentation des crises est directement liée à la localisation de la tumeur (van Breemen et al. 2007; Smits et Jakola 2018). La majorité des patients ont des crises focales simples ou complexes : de 45 à 95% des cas selon les études (Pallud et al. 2019). Le diagnostic peut être difficile en cas de crises focales discrètes : elles peuvent passer inaperçues chez des patients présentant par ailleurs des troubles cognitifs. Dans la cohorte décrite par l'équipe de Johan Pallud (Pallud et al. 2014), seuls 5,3% des patients avec une épilepsie au moment du diagnostic présentaient des crises d'emblée ou secondairement généralisées.

Néanmoins, une première crise d'épilepsie chez un patient d'âge moyen – d'autant plus si la sémiologie est focale et compatible avec un point de départ insulaire, temporal ou frontal – une aura olfactive, un déficit post-critique, un état de mal isolé ou une modification progressive de la sémiologie des crises au cours du temps sont évocateurs d'une épilepsie d'étiologie tumorale et doivent conduire à la réalisation d'une imagerie cérébrale (Huberfeld et Pallud 2015). Elle permettra le plus souvent de porter le diagnostic. Près de la moitié des patients présentant un gliome de bas grade n'ont présenté qu'une seule crise avant la prise en charge oncologique. Cependant, il existe de rares cas, notamment chez les patients présentant un gliome de haut grade, où les crises précèdent l'apparition d'anomalies radiologiques. Enfin, au moment du diagnostic, les crises épileptiques peuvent être isolées ou associées à d'autres symptômes : hypertension intracrânienne et/ou déficit neurologique focal, ces derniers pouvant apparaître après plusieurs années d'évolution (Huberfeld et Pallud 2015).

Les gliomes diffus de bas grade sont le plus fréquemment situés dans le lobe frontal qui est associé à des crises de sémiologie variée (Smits et Jakola 2018). Lorsque la crise survient dans l'aire motrice supplémentaire, elle associe une crise tonique asymétrique avec extension et élévation du bras, suivi d'une déviation forcée de la tête. Les crises somato-motrice Bravais-Jacksoniennes émergent des aires péri-rolandiques. Enfin les crises associant arrêt de la parole et agitation motrice sont associées à des tumeurs de localisation profonde au sein du lobe frontal. Lorsque le gliome est situé dans le lobe temporal, la sémiologie des crises se caractérise

par des sensations de déjà-vu/déjà-vécu, une gêne épigastrique, des hallucinations auditives, des troubles phasiques ou mnésiques. Les crises insulaires se manifestent par un inconfort laryngé, une oppression thoracique ou abdominale, une dyspnée, des paresthésies désagréables ou une impression de chaleur cutanée, suivis d'une dysarthrie et de clonies focales. La région occipitale est moins souvent le siège de gliomes diffus : les patients peuvent rapporter des phénomènes visuels positifs, des amputations du champ visuel ou encore une vision floue pendant les crises (Bonini et al. 2014; Smits et Jakola 2018).

1.1.2.3. Prévalence de l'épilepsie à chaque phase évolutive

Les gliomes diffus sont des tumeurs hautement épileptogènes (van Breemen et al. 2007). Les crises épileptiques sont le symptôme révélateur le plus fréquent. Leur incidence varie en fonction du type de tumeur, de son grade, et de sa localisation. Ainsi les tumeurs de bas grade sont-elles plus épileptogènes que celles de haut grade. L'incidence de l'épilepsie est proche de 80 % pour les tumeurs de bas grade : elle est de 60 % pour les astrocytomes, et elle atteint presque 100 % pour les oligodendrogliomes. Concernant les tumeurs de haut grade, elle est de 50 % pour les gliomes anaplasiques et de 25 à 60 % pour les glioblastomes (Huberfeld et Pallud 2015).

Dans le cas des tumeurs de bas grade, près de 80 % des patients présentent des crises d'épilepsie au moment de la découverte de la lésion à l'imagerie (van Breemen et al. 2007; Pallud et al. 2014). Cette prévalence progresse à 90 % au moment du diagnostic oncologique. Selon les études, l'épilepsie est contrôlée chez 50 à 85 % des patients au moment du diagnostic. Par la suite, la prévalence de l'épilepsie augmente au cours de l'histoire naturelle de la tumeur (Fig. 4) pour atteindre plus de 95 % des cas lorsque cette dernière évolue vers une lésion de haut grade. Il en est de même pour la résistance aux traitements anti-épileptiques qui augmente progressivement (Pallud et al. 2014; Pallud et al. 2019).

Parmi les patients n'ayant pas reçu de traitement oncologique après une biopsie stéréotaxique, 92% présentaient des crises épileptiques au moment du diagnostic dont 87 % étaient contrôlées sous traitement anti-épileptique dans la cohorte étudiée par l'équipe de Johan Pallud (Pallud et al. 2014). Après un suivi moyen de 34 mois sans traitement oncologique, la pharmacorésistance a progressé à près de 40 % (Fig. 4). Dans la même étude, 89,5 % des patients traités sur le plan oncologique présentaient des crises au moment du diagnostic. L'épilepsie était contrôlée dans 62 % des cas avec ou sans traitement anti-épileptique six mois après le traitement oncologique. La résection chirurgicale totale ou subtotale du gliome était associée à un meilleur contrôle de

l'épilepsie. En revanche, la chimiothérapie et la radiothérapie n'ont pas eu d'effet, alors qu'il est rapporté par d'autres travaux.

Ces résultats soulignent la progression de l'épilepsie au cours de l'histoire naturelle des gliomes diffus de bas grade. Ils mettent également en exergue la difficulté à obtenir un contrôle de l'épilepsie à l'aide des seuls traitements anti-épileptiques et son amélioration par les traitements oncologiques.



Figure 4 – Prévalence des crises épileptiques contrôlées (en gris) et résistantes (en noir) aux traitements anti-épileptiques au moment de la découverte à l'imagerie (« Découverte »), au moment du diagnostic histopathologique (« Diagnostic »), 6 mois après la première ligne de traitement oncologique (« Traitement ») et au moment de la transformation maligne (« Transformation maligne »), d'après Pallud et al. 2014.

1.1.2.4. Marqueurs prédictifs de l'épilepsie

L'évolution de l'épilepsie et son contrôle dépendent de la présence de facteurs de risque.

Au moment du diagnostic : concernant les gliomes diffus de bas grade, le sexe masculin et la localisation de la tumeur proche de zones fonctionnelles ou envahissant le néocortex augmentent le risque de déclarer une épilepsie (Pallud et al. 2014). Les gliomes se développant dans les lobes frontaux, temporaux, insulaires ou pariétaux sont plus souvent associés à une épilepsie que ceux se développant dans le lobe occipital (van Breemen et al. 2007). L'épilepsie est particulièrement fréquente lorsque la tumeur est située dans la partie mésiale du lobe temporal ainsi que dans l'insula. Ceci est probablement lié au fort potentiel épileptogène du

cortex de ces deux régions. Le risque augmente également avec le volume tumoral dans le contexte de gliomes de bas grade. Il est probable que la croissance lente de ces tumeurs permettent le développement concomitant de mécanismes pro-épileptogènes et d'une plasticité neuronale, contrairement aux gliomes de haut grade dont la croissance rapide empêche leur mise en place. Une augmentation de la pression intracrânienne, un âge supérieur à 45 ans, une localisation tumorale profonde ou infratentorielle diminuent le risque de déclarer une épilepsie (Pallud et al. 2014; Pallud et al. 2019).

En revanche, le rôle du sous-type histologique ou des marqueurs biomoléculaires semble moins clair et doit encore être évalué. Dans des cohortes américaines de l'Université de Californie et du Glioma International Case Control Study, le risque d'épilepsie semble augmenté dans le cas des oligodendrogliomes et des gliomes mixtes, contrairement à des séries françaises et chinoises où le sous-type histologique n'apparaît pas comme un facteur de risque. La présence d'une mutation sur l'isocitrate déshydrogénase (IDH1 ou IDH2) semble associée à une augmentation du risque d'épilepsie dans les gliomes diffus de bas grade, mais encore controversée dans le cas des gliomes de haut grade (Chen et al. 2017; Pallud et McKhann 2019). Enfin, aucune association n'a été mise en évidence entre les biomarqueurs moléculaires, co-délétion 1p19q ou p53, et un risque majoré d'épilepsie (Pallud et al. 2014; Pallud et al. 2019).

Le retard diagnostic, la localisation insulaire, un coefficient de prolifération élevé (Ki67 supérieur à 10 %) et une localisation proche de zones fonctionnelles sont associés de manière indépendante à la survenue d'une épilepsie résistante aux traitements (Pallud et al. 2014; Huberfeld et Pallud 2015).

Après traitement oncologique : une épilepsie déclarée au diagnostic, une localisation tumorale pariétale ou insulaire augmentent le risque de développer une épilepsie résistante aux traitements. Un âge supérieur à 45 ans au moment du diagnostic, une résection chirurgicale totale ou subtotale améliorent le contrôle de l'épilepsie après traitement oncologique.

La difficulté du contrôle de l'épilepsie résulte de son caractère parfois pharmacorésistant (possiblement dû aux protéines conférant des résistances multiples aux médicaments), des interactions potentielles avec les chimiothérapies (de nombreux traitements anti-épileptiques sont inducteurs ou inhibiteurs enzymatiques) et des troubles cognitifs qu'elle engendre (van Breemen et al. 2007; Weller et al. 2012; Pallud et al. 2014). De ce fait l'épilepsie associée aux tumeurs cérébrales est une entité spécifique. Les chapitres suivants vont dès lors se focaliser

sur les mécanismes généraux de développement des activités épileptiques et sur les particularités de l'épilepsie tumorale.

1.2. Genèse des activités épileptiques

1.2.1. Introduction : Épileptogenèse vs. Ictogenèse

L'épileptogenèse est l'ensemble des processus de remaniement des tissus, induits par une lésion, un désordre développemental ou génétique, tant à l'échelle cellulaire, neuronale et gliale, qu'à celle de réseaux, préluces au développement d'une épilepsie, c'est-à-dire à la production spontanée de crises récurrentes. L'origine et les mécanismes de l'épilepsie tumorale sont multifactoriels et résultent de l'intrication de processus oncologiques et neuronaux aboutissant à un déséquilibre entre les signalisations synaptiques excitatrices et inhibitrices.

L'ictogenèse correspond aux processus de développement d'une crise d'épilepsie (ou décharge ictale) sur un tissu préalablement remanié par les processus d'épileptogenèse. La crise est une décharge prolongée, dynamique, excessive (considérant la fréquence de décharge des neurones) et hypersynchrone (au moins à un stade avancé de la crise) d'une population de neurones. Les crises durent plusieurs secondes, voire minutes, et sont associées à des manifestations cliniques, la décharge affectant le fonctionnement cérébral. Les périodes inter-critiques sont caractérisées par la présence de brèves décharges neuronales synchrones durant quelques dizaines de millisecondes, les activités interictales, sans expression clinique, mais reflétant les anomalies de fonctionnement neuronal liées aux processus d'épileptogenèse.

In vitro, les tissus humains péri-tumoraux peuvent générer spontanément des activités épileptiques interictales, les caractéristiques neuronales et de connectivité pathologique étant préservées. Des crises peuvent aussi y être induites par augmentation pharmacologique de l'excitabilité, la phase de transition vers la crise se caractérisant par l'émergence progressive de décharges transitoires particulières, les décharges pré-ictales qui déclenchent ensuite la crise. Ces différents types d'activités épileptiques sont sous-tendues par des voies de signalisation spécifiques.

1.2.2. Mécanismes généraux de l'épileptogenèse

1.2.2.1. Timing de l'épileptogenèse

Au cours de l'épileptogenèse, le cerveau devient capable de générer des crises lorsque les modifications moléculaires, structurelles et fonctionnelles, atteignent un seuil théorique, à ce jour non quantifiable. Ce seuil est différent de celui permettant de générer des activités intercritiques, présentes avant les premières crises. Ces modifications surviennent à une échelle locale mais elles impliquent également et précocement de vastes réseaux neuronaux dont la taille augmente progressivement au cours de l'épileptogenèse (Zaveri et al. 2020).

Après une agression, une lésion ou un mécanisme génétique, il existe une phase de latence sans crise durant laquelle ces remaniements multiples se mettent en place. Ces processus comprennent notamment une perte neuronale souvent sélective, une perturbation de l'expression de canaux voltage-dépendants et de récepteurs, l'altération de voies métaboliques, l'implication de réactions immunitaires et inflammatoires, ainsi que le développement d'une gliose. Ils peuvent ensuite se poursuivre lorsque les crises épileptiques surviennent. L'évolution de l'épilepsie serait alors marquée par une augmentation de la fréquence des crises et une aggravation des anomalies structurelles, variable selon l'âge et les conditions épileptiques. L'ensemble de ces perturbations entraîne une augmentation de l'excitabilité neuronale (Blauwblomme et al. 2014).

1.2.2.2. Effets du processus tumoral sur l'épileptogenèse

L'épileptogenèse semble multifactorielle, elle combine des processus liés à la tumeur elle-même et à la modification de son microenvironnement. Ces mécanismes semblent différer entre les gliomes diffus de bas grade et ceux de haut grade. Néanmoins, quel que soit le type de tumeur, le principe général est un déséquilibre entre les voies inhibitrices et excitatrices basculant vers un excès d'excitation.

Dès 1966, des enregistrements transcorticographiques (ECoG) de patients porteurs de gliomes montraient que les activités épileptiques prenaient naissance dans le cortex péri-tumoral, la tumeur en elle-même étant dépourvu d'activités électriques (Fig. 5) (Hirsch et al. 1966).

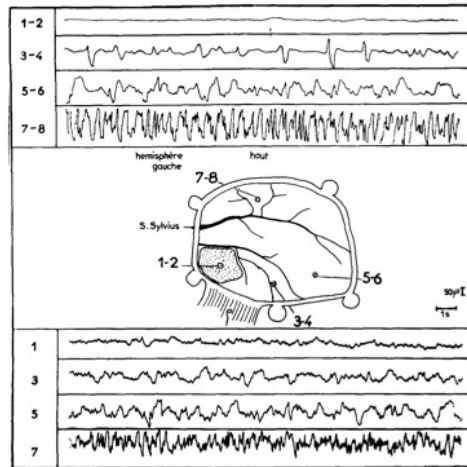


Figure 5 – Enregistrements en transcorticographie radiaire et en dérivation monopolaire dans un cas de gliome temporal superficiel, d'après Hirsch et al. 1966.

Depuis les enregistrements électrophysiologiques pré- (Mittal et al. 2016) et per-opératoires (ECoG) (Tran et al. 1997) ainsi que ceux réalisés *ex vivo* sur des biopsies de cortex péri-tumoral (Pallud et al. 2014) ont confirmé la genèse des activités épileptiques dans le cortex péri-tumoral fonctionnel et infiltré par les cellules tumorales isolées et non au sein de la tumeur elle-même (Pallud et al. 2019) (Fig. 6).

L'épileptogénicité des gliomes de bas grade résulterait donc principalement des interactions entre la tumeur et le néocortex plutôt que du simple fait des propriétés intrinsèques de la tumeur. Les contraintes spatiales imposées par la tumeur au cours de son développement pourraient ainsi participer à la genèse de l'épilepsie tumorale : l'effet de masse et l'œdème peuvent induire des altérations de la microcirculation et une hypoperfusion cérébrale par diminution de la pression de perfusion cérébrale, responsables de modifications ischémiques locales dans le cortex péri-tumoral (Pallud et al. 2013; Pallud et al. 2019). La croissance lente des gliomes de bas grade et l'infiltration tumorale pourrait isoler des aires corticales circonscrites et provoquer une déafférentation du réseau neuronal cortico-sous-cortical localement et à distance (van Breemen et al. 2007). Les gliomes interrompraient donc les connectivités fonctionnelles des réseaux neuronaux au sein du cortex péri-tumoral mais également à distance de celui-ci, participant à l'épileptogénicité de ces tumeurs (van Breemen et al. 2007; Pallud et al. 2019). Les mécanismes de l'épileptogénèse semblent sensiblement différents en ce qui concerne les gliomes de haut grade qui se caractérisent par une croissance rapide associée à une néoangiogenèse anarchique pouvant être à l'origine d'agressions tissulaires aiguës, telles des

hémorragies ou de la nécrose, qui concourent à l'épileptogénèse (van Breemen et al. 2007; Pallud et al. 2013). Par ailleurs, la barrière hémato-encéphalique de ces néo-vaisseaux pourrait être perméable à des molécules pro-épileptogènes (IgG et albumine notamment) ainsi que des éléments du système immunitaire.

Néanmoins, les propriétés intrinsèques de la tumeur et les modifications qu'elle induit dans le cortex péri-tumoral ne peuvent expliquer à elles seules la survenue d'une épilepsie.

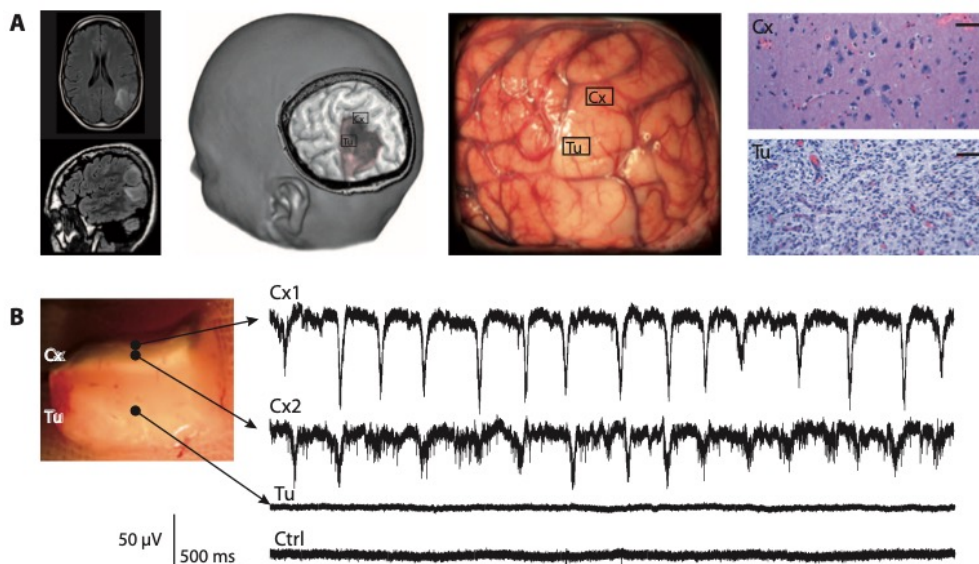


Figure 6 – Les activités interictales sont générées dans le cortex infiltré par des cellules gliomateuses, d'après Pallud et al. 2014. (A) Exemple d'un gliome de bas grade du lobe pariétal gauche. Les échantillons de tissu ont été prélevés au sein de la tumeur (Tu) et dans le néocortex (Cx) dépourvu d'infiltration tumorale macroscopique. Dans les zones sans anomalies visibles (Cx), seule une infiltration par des cellules gliomateuses a été détectée (coloration hématoxyline et éosine HES, x 200). L'infiltration tumorale était évidente dans les zones avec des anomalies visible à l'imagerie (Tu, HES, x 200). **(B)** Enregistrements extracellulaires de IID à partir d'une tranche contenant du tissu tumoral et du cortex adjacent infiltré. Localisation des électrodes : Cx1, couche superficielle du néocortex ; Cx2 couche intermédiaire du néocortex ; Tu tissu tumoral. Ctrl correspond à un enregistrement de néocortex non infiltré dans un tissu contrôle issu d'un autre échantillon de tumeur.

1.2.2.3. Perturbation des propriétés neuronales intrinsèques, de l'excitabilité des canaux ioniques

Des changements affectant les neurones vont également avoir un rôle dans l'épileptogenèse. Le cortex péri-tumoral va ainsi être le lieu de migrations neuronales aberrantes, de modifications des vésicules synaptiques et des communications intercellulaires par le biais d'une augmentation de l'expression de jonctions communicantes ou encore de la persistance de neurones dans la substance blanche (van Breemen et al. 2007).

L'expression de co-transporteurs ioniques est perturbée à la surface des neurones pyramidaux péri-tumoraux : l'expression du co-transporteur $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 1 (NKCC1) qui assure un influx simultané de 1 Na^+ , 1 K^+ , et 2 Cl^- guidé par le gradient électrochimique du sodium (Na^+) est augmentée tandis que celle du co-transporteur K^+/Cl^- 2 (KCC2) qui permet un efflux conjoint des ions chlore (Cl^-) et potassium (K^+) sous l'influence du gradient électrochimique du K^+ est diminuée. Ces perturbations vont conduire à une modification du potentiel d'inversion du GABA (E_{GABA}) que nous détaillerons dans les paragraphes suivants (De Groot et al. 2012).

Les micro- et macro-hémorragies au sein de la tumeur pourraient entraîner une augmentation des concentrations extracellulaires en fer (Fe^{3+}) responsable d'une altération de la membrane neuronale. Celle-ci pourrait modifier le potentiel membranaire des neurones. Les concentrations extracellulaires en magnésium (Mg^{2+}) et en calcium (Ca^{2+}) pourraient également être affectées du fait de l'œdème et des hémorragies. La baisse des niveaux de Mg^{2+} conduit à des décharges épileptiformes spontanées (De Groot et al. 2012). Les modifications structurelles et fonctionnelles affectant le cortex péri-tumoral altèrent la connectivité fonctionnelle. L'altération de la perméabilité membranaire aux ions perturbe directement les propriétés fonctionnelles des réseaux neuronaux. Le blocage des récepteurs GABA va ainsi modifier l'activité cérébrale dans la bande thêta (De Groot et al. 2012).

L'activation de la voie de signalisation intracellulaire mTOR a été impliquée aussi bien dans l'oncogenèse et la progression tumorale que dans l'épileptogenèse. Il a ainsi été montré que l'activité neuronale provoque la prolifération des progéniteurs des cellules gliomateuses *via* l'activation de la voie mTOR. Il est donc probable que la croissance tumorale conduise à l'épileptogenèse et que, de manière réciproque, l'activité des neurones péri-tumoraux favorise la prolifération tumorale (Pallud et al. 2019).

1.2.2.4. Perturbations des connexions synaptiques

Transmission glutamatergique :

L'homéostasie du glutamate dans le milieu extracellulaire est fortement altérée au sein de la tumeur et du cortex péri-tumoral : des concentrations plus de 100 fois supérieures à la normale ($> 100 \mu\text{M}$) ont été mesurées dans le cortex péri-tumoral (Marcus et al. 2010). L'élévation des concentrations en glutamate conduit à une excitabilité neuronale excessive, ce qui favorise la survenue de décharges épileptiques synchrones des neurones pyramidaux.

Différents mécanismes sous-tendent cette perturbation (Fig. 7). Tout d'abord les cellules tumorales sont dépourvues des transporteurs d'acides aminés dépendant du Na^+ , EAAT 1 et 2, ce qui conduit à une diminution de la capture du glutamate par celles-ci. En revanche, elles expriment fortement le transporteur Xc cystine-glutamate, entraînant une libération massive de glutamate en échange de l'incorporation de cystine. La cystine est ensuite métabolisée en cystéine au sein des cellules gliomateuses, puis utilisée pour la synthèse d'un puissant antioxydant : le glutathion. Ce dernier confère alors à la cellule tumorale une résistance aux radicaux libres et favorise donc sa survie et l'expansion de la tumeur (Robert et al. 2014; Pallud et al. 2019). De surcroît, les astrocytes et la microglie activée dans le cortex péri-tumoral présentent le même défaut de clairance du glutamate : baisse de capture et augmentation de libération (Pallud et al. 2013; Pallud et al. 2019). En effet, l'expression des transporteurs EAAT1 et EAAT2 est fortement diminuée à leur surface, contribuant à l'augmentation des concentrations extracellulaires en glutamate. Les perturbations touchant la voie de signalisation de l'adénosine pourraient également impacter indirectement la libération de glutamate. L'équilibre entre l'ATP et l'adénosine au sein des cellules dépend de l'activité de l'adénosine kinase dont l'expression est diminuée dans les cellules gliomateuses. L'ATP est ensuite libérée dans l'espace extracellulaire au travers des pannexines, dont la présence serait elle-même réduite à la surface des cellules tumorales. Il en résulte donc une diminution des concentrations en adénosine extracellulaire, ce qui réduit l'activation des récepteurs présynaptiques A1 de l'adénosine et augmente donc la libération du glutamate par les neurones (Pallud et al. 2013).

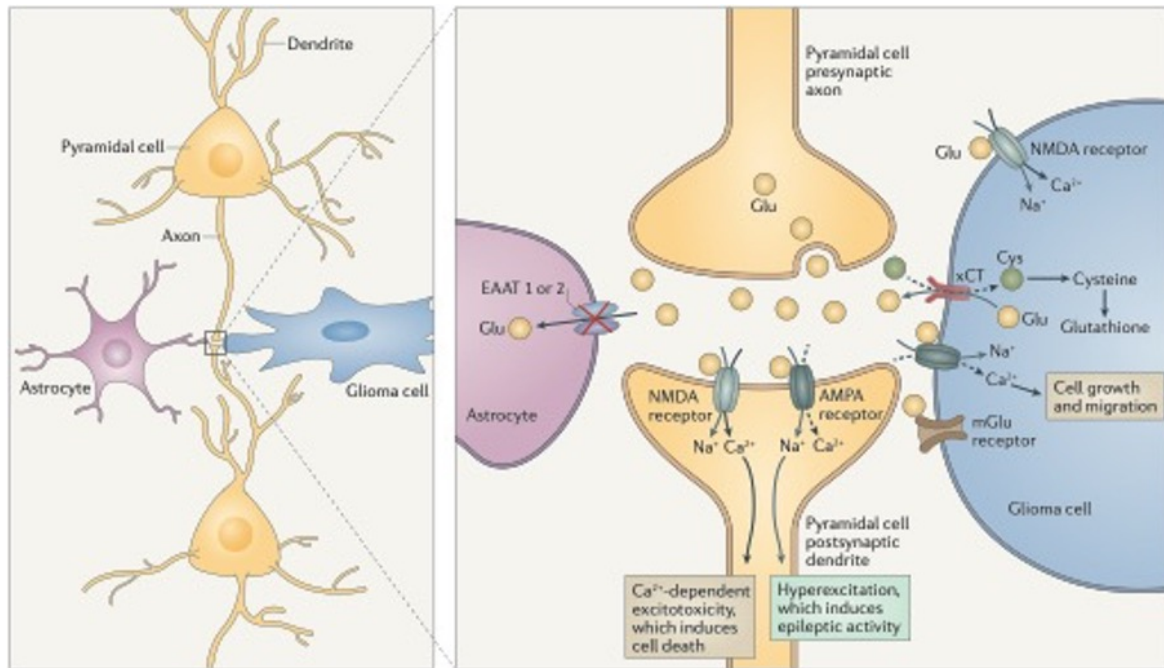


Figure 7 – La signalisation glutamatergique favorise l'oncogenèse et l'épileptogenèse, d'après Huberfeld et al. 2016. Dans le cortex cérébral, une cellule gliomateuse infiltrante libère du glutamate via le transporteur Xc cystine-glutamate en échange de la cystéine, qui est transformée en cystéine. La cystéine permet la synthèse du glutathion, un puissant antioxydant, qui protège la cellule gliomateuse. Les concentrations extracellulaires en glutamate augmentent du fait de la diminution de la capture par les astrocytes dont les transporteurs EAAT 1 et EAAT 2 sont altérés. Le glutamate en excès dans la fente synaptique active les récepteurs post-synaptiques NMDA et AMPA, conduisant à une dépolarisation et à une excitation qui favorisent les décharges épileptiques. L'influx post-synaptique de Ca^{2+} contribue également à l'excitotoxicité, qui induit une mort neuronale et libère de l'espace pour la croissance de la tumeur. Le glutamate ambiant se lie et active les récepteurs NMDA, AMPA ainsi que les récepteurs métabotropiques au glutamate sur les cellules gliomateuses. Le Ca^{2+} intracellulaire active des voies de signalisation qui promeuvent la croissance cellulaire, la prolifération et la migration.

Parallèlement aux perturbations de l'homéostasie du glutamate, les mutations retrouvées sur les gènes IDH des gliomes – 70 à 80% des gliomes de bas grade – conduisent à la métabolisation de l'isocitrate en D-2-hydroxyglutarate (D2HG) au lieu de l' α -ketoglutarate. Dès lors, le D2HG s'accumule dans les cellules gliomateuses ainsi que dans l'espace extracellulaire, où il agirait comme agoniste des récepteurs au glutamate du fait de son analogie stricte avec ce dernier (Huberfeld et Vecht 2016). Ceci pourrait expliquer pourquoi le risque de développer des crises épileptiques est plus important lorsqu'une mutation IDH est mise en évidence dans les gliomes de bas grade.

Il est à noter que le transporteur Xc cystine-glutamate semble être davantage exprimé dans les gliomes de haut grade IDH-sauvages que dans les gliomes de bas grade IDH-mutés (Sørensen et al. 2018). Ceci suggère que l'épileptogénicité médiée par le glutamate serait issue d'un processus différent dans les gliomes de haut grade que dans les gliomes de bas grade. Dans le premier cas, elle serait médiée par la libération de glutamate par les cellules gliomateuses au travers du transporteur Xc cystine-glutamate alors qu'elle serait liée à l'accumulation de D2HG dans l'espace extracellulaire dans le second. La surexpression du transporteur Xc cystine-glutamate est également associée à l'épilepsie mais avec un moins bon pronostic contrairement à la mutation IDH (Pallud et McKhann 2019).

Dans le cortex péri-tumoral, l'activation des récepteurs de l'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) et N-méthyl-D-aspartate (NMDA) par le glutamate présent en excès dans le milieu extracellulaire entraîne un influx de Na^+ et de Ca^{2+} dans le neurone post-synaptique responsable d'une hyperexcitabilité des neurones facilitant une synchronisation pathologique des neurones pyramidaux, d'une plasticité excitatrice favorisant la survenue d'activités épileptiques, et d'une excitotoxicité aboutissant à une mort neuronale permettant l'expansion de la tumeur. Au sein de la tumeur, le glutamate agit comme un « facteur de croissance tumoral ». En effet l'activation des récepteurs AMPA, NMDA et des récepteurs métabotropiques au glutamate à la surface des cellules gliomateuses promeut leur prolifération, leur motilité et donc l'infiltration des tissus environnants (Huberfeld et Vecht 2016).

Plus récemment, il a été montré que l'activité neuronale régule la croissance des gliomes de haut grade, porteurs ou non de la mutation IDH, *via* la libération de neuroligine-3 (NLGN3) et la transmission glutamatergique. La NLGN3 promeut l'expression de gènes synaptiques par la tumeur dont ceux des récepteurs au glutamate et des protéines de structure post-synaptiques. Il a été montré sur des xénogreffes de cellules de glioblastomes qu'environ 10 % des cellules gliomateuses présentent des synapses fonctionnelles, comparables à celles retrouvées sur les précurseurs des cellules oligodendrogiales normales, dont la formation est médiée par la NLGN3. Elles sont retrouvées dans le cortex péri-tumoral infiltré par les cellules tumorales entre un neurone présynaptique et une cellule gliomateuse post-synaptique et présentent toutes les caractéristiques de synapses glutamatergiques en microscopie électronique. Elles se situent à l'interface entre un microtubule tumoral et un neurone. Les microtubules tumoraux sont des processus des cellules gliomateuses dont l'expansion est guidée par des voies de signalisation cellulaire impliquées dans le neurodéveloppement et la neuroplasticité. Ils ont un rôle crucial

dans l'invasion et la prolifération tumorale et sont impliqués dans la formation d'un réseau de communication fonctionnelle entre les cellules tumorales d'une part ainsi qu'entre la tumeur et les neurones d'autre part. La communication synaptique s'effectue, quant à elle, au travers de récepteurs AMPA présents à la surface des cellules tumorales post-synaptiques. La particularité de ces récepteurs dépourvus de sous-unité GluA2 fonctionnelle est qu'ils sont perméables au Ca^{2+} . Les enregistrements en patch-clamp révèlent des potentiels post-synaptiques excitateurs confirmant le caractère fonctionnel de ces synapses. Néanmoins, aucun potentiel d'action ne peut être enregistré au sein du réseau tumoral ce qui confirme le caractère non excitable des cellules gliomateuses. Par ailleurs, l'activation des récepteurs AMPA par les décharges neuronales déclenche des vagues calciques au sein des cellules gliomateuses qui favorisent la croissance et l'invasion tumorale, soulignant l'intrication des processus épileptiques et oncologiques (Venkatesh et al. 2019; Venkataramani et al. 2019). Dès lors, une activité neuronale excessive telle qu'elle survient au moment des crises d'épilepsie pourrait stimuler la prolifération tumorale. Tantillo et al. ont ainsi montré sur un modèle murin que l'activation par optogénétique des cellules pyramidales favorisait la croissance tumorale tandis que celle des interneurons à parvalbumine l'inhibait. Ils ont ensuite implanté des cellules tumorales dans le cortex visuel primaire afin de contrôler l'activation des neurones excitateurs et inhibiteurs grâce à des stimuli sensoriels. De manière étonnante, la densité de prolifération des cellules tumorales a été accrue chez les animaux maintenus dans l'obscurité, alors qu'elle a été réduite chez ceux qui ont reçu des stimuli visuels. Ces résultats suggèrent une régulation bidirectionnelle de la croissance tumorale par les stimuli sensoriels afférents dans ce modèle murin. Dans la suite de l'étude, ils ont implanté les cellules tumorales dans le cortex moteur en maintenant les différentes conditions de stimulation sensorielle. Dans cette expérience, la prolifération tumorale a été identique, que les animaux soient maintenus dans l'obscurité ou exposés à des conditions de luminosité standard, montrant ainsi que l'effet des stimuli sensoriels sur la croissance tumorale est région-dépendante. Les auteurs émettent l'hypothèse d'une libération significative de GABA par la stimulation visuelle qui supplanterait les effets de la signalisation glutamatergique. Ces données montrent la complexité des effets liés à l'activation des différentes populations de neurones dans la régulation de la prolifération tumorale (Tantillo et al. 2020).

Transmission GABAergique :

La transmission GABAergique est également directement et positivement impliquée dans l'émergence des activités épileptiques notamment en raison de la perturbation des concentrations en Cl^- dans les neurones pyramidaux péritumoraux à l'origine des effets dépolarisants de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) (Fig. 8).

Diverses modifications intra- et péri-tumorales sont à l'origine d'un affaiblissement de la transmission inhibitrice GABAergique dans le cortex péritumoral, bien que la concentration en GABA y soit plus importante qu'au sein de la tumeur. Tout d'abord, le glutamate, présent en excès, régule négativement l'expression des récepteurs GABA_A tant sur les neurones pyramidaux que sur les astrocytes à proximité de la tumeur. On observe également une diminution du nombre d'interneurones GABAergiques et de synapses inhibitrices sur les neurones pyramidaux dans le cortex péritumoral conduisant à une diminution de la signalisation GABAergique inhibitrice (Pallud et al. 2013; Huberfeld et Vecht 2016).

De plus, la perturbation de l'homéostasie du Cl^- intracellulaire dans le cortex péritumoral perturbe les réponses neuronales au GABA. Dans les neurones matures sains, le Cl^- est maintenu à de faibles concentrations grâce à l'activité du co-transporteur KCC2 qui permet un efflux conjoint des ions Cl^- et K^+ sous l'influence du gradient électrochimique du K^+ et à la répression du co-transporteur NKCC1 qui assure un influx simultané de 1 Na^+ , 1 K^+ , et 2 Cl^- guidé par le gradient électrochimique du Na^+ . En libérant le Cl^- , l'activité de KCC2 permet de maintenir E_{GABA} à des niveaux plus négatifs que le potentiel membranaire de repos. Dans ces conditions, l'activation des récepteurs GABA au potentiel de repos provoque une entrée de Cl^- dans le neurone en suivant son gradient électrochimique, ce qui hyperpolarise la cellule et inhibe l'activité neuronale. L'efficacité de la transmission GABAergique inhibitrice est conditionnée par l'équilibre finement régulé entre les activités de NKCC1 et KCC2 . L'augmentation du rapport $\text{NKCC1}/\text{KCC2}$ est responsable des effets dépolarisants du GABA au cours du développement normal. Ces modifications sont également retrouvées dans certaines situations pathologiques, notamment dans l'épilepsie. Dans les gliomes diffus, l'homéostasie des ions Cl^- est perturbée dans plus de la moitié des neurones du cortex péritumoral (Pallud et al. 2014). En effet, leur concentration intracellulaire est majorée en raison d'une perturbation d'expression des co-transporteurs. La diminution d'expression de KCC2 et la réduction des capacités de libération du Cl^- conduit à un déplacement du E_{GABA} vers des potentiels plus positifs que le potentiel membranaire de repos. En conséquence, l'activation du récepteur GABA_A tend à faire sortir les anions Cl^- du neurone et donc à le dépolariser, allant jusqu'à créer une excitation, si le seuil d'ouverture des canaux Na^+ voltage-dépendant est atteint, et à

l'émission d'un potentiel d'action (Pallud et al. 2013; Pallud et al. 2014; Di Angelantonio et al. 2014; MacKenzie et al. 2016).

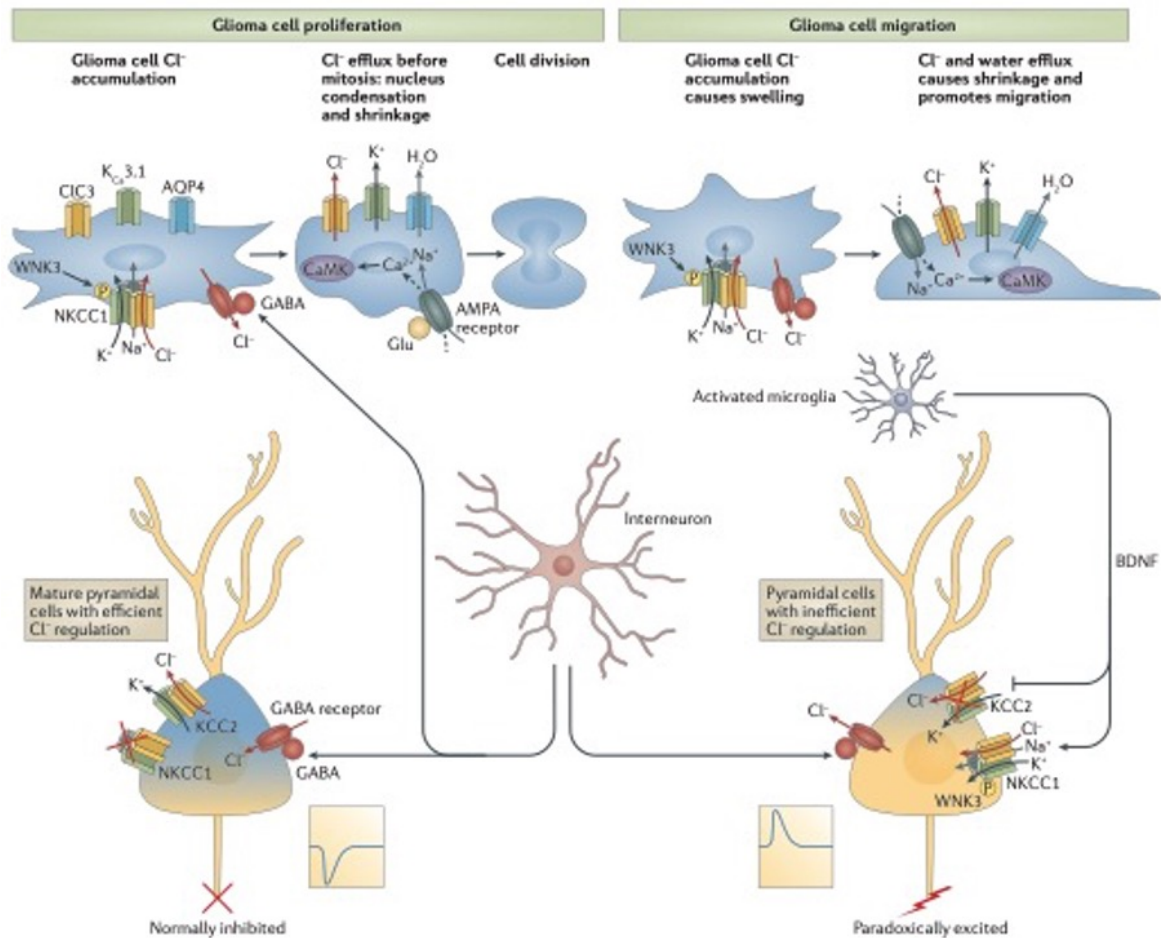


Figure 8 – La dysrégulation du chlore intracellulaire et ses conséquences sur la transmission GABAergique favorisent l'oncogénèse et l'épileptogénèse, d'après Huberfeld et al. 2016. Les cellules gliomateuses accumulent le Cl⁻ intracellulaire du fait de l'augmentation d'expression du co-transporteur Na⁺/K⁺/Cl⁻ NKCC1, qui est régulé par phosphorylation sous la dépendance de la kinase WNK3. Avant la mitose, le Cl⁻ est libéré au travers du canal chlore 3 (CIC3) et l'eau au travers du canal hydrique aquaporine 4 (AQP4). La mitose est ensuite déclenchée par l'activation des récepteurs de l'acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique (AMPA) qui conduit à une activation des protéines kinases Ca²⁺-calmoduline dépendantes (CaMK). Il en résulte une contraction cellulaire qui est nécessaire à la division et la migration cellulaires. La libération de l'acide γ -aminobutyrique (GABA) par les interneurones dépolérise les cellules gliomateuses grâce à l'efflux de Cl⁻, ce qui entraîne un influx de Ca²⁺ et altère les mécanismes Ca²⁺-dépendants, bloquant ainsi la prolifération et la migration. L'activation de la microglie en réponse à la tumeur entraîne une libération du *brain-derived neurotrophic factor* (BDNF) qui contribue à la dysrégulation du Cl⁻ dans les cellules pyramidales. Dans ces cellules, l'expression du co-transporteur K⁺/Cl⁻ 2 (KCC2) est diminuée et celle de NKCC1 est augmentée. L'augmentation du Cl⁻ intracellulaire génère un efflux dépolarisant de Cl⁻ en réponse à l'activation des récepteurs GABA_A, ce qui peut conduire à des décharges épileptiques.

L'expression des co-transporteurs est étroitement régulée par leur niveau de phosphorylation. MacKenzie et al. ont montré que la phosphorylation de KCC2 sur le résidu sérine 940 (Ser940) est essentielle pour sa stabilité à la surface de la cellule et son efficacité. La déphosphorylation de Ser940 en réponse à des concentrations pathologiques en glutamate dans le milieu extracellulaire péri-tumoral, entraîne une baisse de son expression et un effondrement du gradient du Cl⁻ dans un modèle murin xéno-greffé avec des cellules gliales tumorales. La conséquence directe de ces altérations est la genèse d'activités épileptiformes spontanées (MacKenzie et al. 2016). En revanche, les résultats de l'étude de l'équipe de Di Angelantonio sur des co-cultures de neurones murins hippocampiques et de cellules gliomateuses humaines suggèrent que la dépolarisation de E_{GABA} et la perturbation de l'homéostasie du Cl⁻ seraient sous-tendues par un dysfonctionnement de KCC2 lié à sa phosphorylation. En effet, la libération du glutamate par les cellules gliomateuses activerait les récepteurs glutamatergiques, AMPA et NMDA, entraînant une élévation des concentrations intracellulaires en zinc qui réduirait ainsi l'activation de KCC2 via l'activation de la voie Src/TrkB. Cette voie de signalisation aboutissant à la phosphorylation de KCC2 sur des résidus tyrosine. Par ce mécanisme, la tumeur pourrait diminuer la transmission inhibitrice, entraînant une hyperexcitabilité et donc des crises épileptiques (Di Angelantonio et al. 2014).

Ces modifications d'expression des co-transporteurs NKCC1 et KCC2, connues dans d'autres processus de déafférentation, pourraient également être médiées par le BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) libéré par les cellules gliomateuses et la microglie activée (Pallud et al. 2013) ainsi que par l'activation de la voie mTor (de Curtis et al. 2019).

L'expression des co-transporteurs NKCC1 et KCC2 est perturbée de la même manière à la surface des cellules gliomateuses. La mitose, la prolifération et la migration tumorales sont associées à des modifications du volume cellulaire et de l'osmolalité sous-tendus par les concentrations en Cl⁻ et les flux d'eau. Les concentrations intracellulaires en Cl⁻ sont ainsi maintenues à des niveaux élevés dans les cellules gliomateuses, à plus de 100 mM soit 10 fois la concentration usuelle, en raison de l'activation du co-transporteur NKCC1, médiée par sa phosphorylation *via* WNK3. L'accumulation du Cl⁻ en phase inter-mitotique est le prélude à un fort efflux au travers du canal chlore ClC3, survenant conjointement à celui du K⁺ au travers de canaux dont KCa3.1 et de l'eau via les aquaporines, entraînant une réduction drastique du volume cellulaire. Ces processus sont déclenchés par l'entrée de Ca²⁺ au travers des récepteurs AMPA. La division des cellules tumorales va ensuite permettre leur migration le long des fibres

nerveuses et des vaisseaux sanguins en facilitant la motilité cellulaire grâce à leur adaptation aux contraintes spatiales imposées par l'environnement extracellulaire (Huberfeld et Vecht 2016) (Fig. 8).

Les mécanismes décrits ci-dessus rendent compte des modifications dans le tissu péritumoral permettant la genèse des crises et contribuent à produire des activités brèves interictales, marqueurs de l'épileptogénicité du tissu. D'autres mécanismes, dits d'ictogénèse, sont mis en jeu lors de la genèse des crises.

1.2.2.5. Oscillations à haute fréquence (HFO) et ondes lentes de dépolarisation corticale

Les HFO sont constituées d'activités dans la bande 80 – 600 Hz. Elles sont divisées en deux sous-groupes : les *ripples* 80 – 250 Hz et les *fast ripples* 250 – 600 Hz. Elles sont visibles en EEG uniquement après filtration du signal sur des fréquences spécifiques.

De nombreuses études suggèrent que les *ripples*, physiologiques, sous-tendent les processus de mémorisation au cours du sommeil au sein de l'hippocampe. Elles seraient le reflet des potentiels post-synaptiques inhibiteurs générés par les neurones pyramidaux en réponse à la libération de GABA par les interneurons et seraient donc liées aux variations du Cl⁻. Elles reposeraient donc principalement sur la transmission GABAergique et plus particulièrement sur la voie de signalisation du récepteur GABA_A. De récentes études suggèrent également l'implication du Ca²⁺ intracellulaire et des jonctions communicantes. (Lévesque et Avoli 2019). Alors que les *fast ripples* sont généralement décrites comme pathologiques, des oscillations à la même fréquence > 250 Hz sont observées au niveau du cortex somatosensitif des animaux au sein des fuseaux du sommeil. Elles ont également été observées chez les humains lors de l'enregistrement du potentiel évoqué N20 au niveau du cortex somatosensitif primaire (Curio et al. 1994). Les mécanismes sous-jacents à leur genèse ne sont pas encore clairement élucidés. Elles pourraient être le reflet de l'activité de projections thalamocorticales pour la composante précoce et celui de l'activité des interneurons inhibiteurs sur les cellules pyramidales pour la composante tardive (Lévesque et Avoli 2019).

Chez les animaux épileptiques, les *ripples* et *fast ripples* peuvent survenir de manière isolée ou associées aux activités interictales. Les *fast ripples* semblent cependant étroitement liées au développement d'une épilepsie. Elles sont ainsi détectées sur des enregistrements électroencéphalographiques de patients épileptiques mais pas chez des sujets contrôles, bien qu'une étude EEG intracrânienne en ait enregistrées sur des électrodes situées en dehors de la

zone épileptique (Frauscher et al. 2018). Elles représenteraient un bon marqueur du foyer épileptique et seraient un facteur pronostique en post-opératoire d'une chirurgie d'épilepsie. Elles dépendraient moins des interneurons que les *ripples* : elles persistent en effet après l'interruption de la transmission inhibitrice. Elles reflèteraient davantage l'activités de groupes de neurones pyramidaux déchargeant en décalage de phase et donc de la transmission glutamatergique (Lévesque et Avoli 2019; Cepeda et al. 2020).

La première étude portant sur les HFO au cours du développement de l'épilepsie a été réalisée sur des rats après injection intrahippocampique d'acide kainique. Les HFO sont apparues dans le gyrus denté ipsilatéral à l'injection avant la survenue de crises spontanées, suggérant l'implication de troubles neuronaux associés aux HFO pathologiques dans l'épileptogenèse. Elles apparaissent précocement au cours de la phase de latence entre l'agression cérébrale et l'apparition des premières crises épileptiques. Leur détection pourrait donc permettre de prédire la survenue d'une épilepsie chez les patients ayant subi une agression cérébrale. Les HFO pourraient également être utilisées comme marqueur pour le suivi des patients épileptiques mais nécessitent pour cela d'être davantage explorées (Jiruska et al. 2017). Des HFO dans la gamme des *ripples* ont été enregistrées sur le cortex péri-tumoral (Feyissa et al. 2018).

Enfin, des ondes lentes de dépolarisation corticale ont récemment été mises en évidence dans un modèle murin de glioblastome. Leur potentiel effet pro-inflammatoire pourrait intervenir dans l'installation progressive d'un état d'hyperexcitabilité dans le cortex péri-tumoral. Ces vagues de dépolarisation pathologiques impliquent des influx intracellulaires massifs de Ca^{2+} médiés en partie par l'activation des récepteurs NMDA. Ces derniers interrompent transitoirement l'activité neuronale et perturbe la fréquence de décharges dans les neurones en phase de récupération. Les ondes lentes de dépolarisation corticale pourraient être à l'origine de certains symptômes neurologiques transitoires, tels que les syndromes confusionnels, les déficits moteurs ou les céphalées, chez les patients présentant un gliome (Hatcher et al. 2020).

1.2.2.6. Perturbations gliales astrocytaires

Nous avons déjà évoqué la baisse d'expression des transporteurs EAAT1 et EAAT2 à la surface des astrocytes impliquée dans un défaut de clairance du glutamate.

Le tampon potassique est également perturbé dans le cortex péri-tumoral. En effet, dans un tissu neuronal sain, les concentrations extracellulaires en potassium sont maintenues à un faible niveau grâce aux canaux Kir 4.1 astrocytaires qui permettent une capture des ions K^+ libérés

par les cellules pyramidales au travers du co-transporteur KCC2 (Olsen et al. 2008) et lors des potentiels d'action neuronaux. Dans le cortex péri-tumoral, les astrocytes n'expriment plus Kir 4.1, ce qui conduit à une augmentation des concentrations extracellulaires en K^+ . Combinée à d'autres perturbations comme l'alcalinisation du cortex péri-tumoral et le dysfonctionnement des jonctions communicantes astrocytaires, elle pourrait conduire à une hyperexcitabilité neuronale et favoriser l'épileptogénèse (Pallud et al. 2019). Le couplage des astrocytes du cortex péri-tumoral est ainsi augmenté par le biais des jonctions communicantes, notamment la connexine 43 dont l'expression est elle-même fortement augmentée. Il contribue à l'hypersynchronisation des décharges neuronales au niveau du foyer épileptique (De Groot et al. 2012).

1.2.2.7. Autres (angiogénèse, microglie, immunité)

L'angiogénèse intratumorale est imparfaite, il en résulte une diminution de la perfusion associée à une diminution du métabolisme au sein de la tumeur. Ces perturbations conduisent à des phénomènes hypoxiques transitoires et chroniques tant au sein de la tumeur que des régions péri-tumorales entraînant des modifications du pH de l'espace extracellulaire, et altérant les cellules gliales (van Breemen et al. 2007). La conséquence ultime de ces dérèglements est une augmentation de l'excitabilité neuronale et donc potentiellement le développement d'une épilepsie.

Ces néovaisseaux défectueux conduisent par ailleurs à des altérations au niveau de la barrière hémato-encéphalique qui devient perméable et expose le tissu cérébral à des éléments pro-épileptogènes du sérum : glutamate, fibrinogène, albumine, ou encore VEGF (*vascular endothelial growth factor*). Le VEGF peut conduire à de l'œdème. Il peut également altérer la perméabilité des jonctions communicantes. Le glutamate qui s'extravase des néovaisseaux vient augmenter encore les concentrations extracellulaires, déjà élevées du fait de sa libération excessive par la tumeur et les neurones péri-tumoraux (Fig. 7). L'albumine est, quant à elle, captée par les astrocytes périvasculaires. Son accumulation dans ces cellules est à l'origine de la baisse d'expression des canaux potassiques à rectification entrante Kir 4.1 et donc de la réduction du tampon potassique extracellulaire. De plus, le fibrinogène et l'albumine vont contribuer à l'apparition d'une gliose réactionnelle conduisant là encore à une altération de la clairance du K^+ et du glutamate qui favorise une hyperexcitabilité du réseau neuronal avoisinant (Pallud, et al. 2013; Olsen et al. 2008). Enfin, les immunoglobulines pourraient également perturber le fonctionnement neuronal (Pallud et al. 2013).

Les cellules gliomateuses recrutent les cellules non tumorales : astrocytes, microglie, cellules du stroma. Elles leur prodiguent des ressources et un avantage en termes de croissance, ce qui favorise la progression tumorale. En activant et attirant la microglie avoisinante, les cellules gliomateuses vont également augmenter leurs capacités de migration (Pallud et al. 2013). Hatcher et al. ont récemment montré que l'infiltration microgliale dans le néocortex coïncide avec le début de l'invasion tumorale. Elle augmente ensuite régulièrement au cours de l'épileptogenèse dans des régions proches mais aussi dans des régions éloignées de la tumeur (Hatcher et al. 2020).

1.2.3. Mécanismes d'ictogenèse

L'ictogenèse correspond aux processus de développement d'une crise d'épilepsie (ou décharge ictale) sur un tissu préalablement remanié. Les crises correspondent à une décharge prolongée, excessive et hypersynchrone d'une population de neurones. Elles durent plusieurs secondes, voire minutes, et sont généralement associées à des manifestations cliniques, la décharge affectant le fonctionnement cérébral. Les périodes inter-critiques sont caractérisées par la présence de brèves décharges neuronales synchrones durant quelques dizaines à quelques centaines de millisecondes, les activités inter-ictales, sans expression clinique évidente même si leur accumulation perturbe les fonctions cognitives (Lambert et al. 2020). Ces activités consistent en des grapho-éléments épileptiques isolés ou en brèves salves : pointes, pointes-ondes, ou encore poly-pointes-ondes. Les activités ictales sont plus complexes : elle présentent une organisation temporo-spatiale caractéristique (Fig. 9). Elles sont généralement initiées soit par des activités pré-ictales soit par une seule déflexion lente, désignée également sous le terme de « pointe sentinelle », suivies d'une décharge d'activités rapides de bas voltage de durée variable. Elles s'achèvent par une phase d'activités plus lentes et rythmiques, hypersynchrones. L'identification de différentes aires impliquées dans l'avènement d'une crise a été permise par le développement de la chirurgie de l'épilepsie : le foyer épileptique responsable de la genèse des crises, la zone de départ de la crise au sein de laquelle la crise s'initie et se propage dans d'autres aires qui produisent les symptômes cliniques, et enfin la zone irritative qui produit les activités inter-ictales, généralement plus étendue que le foyer épileptique. Les activités épileptiques inter-critiques et critiques émergeraient donc de régions cérébrales distinctes, impliquant possiblement des populations neuronales et des voies de signalisation différentes (Blauwblomme et al. 2014).

In vitro, les tissus humains péritumoraux peuvent générer spontanément des activités épileptiques interictales. En revanche, les crises ne peuvent y être induites qu'en augmentant pharmacologiquement l'excitabilité, la phase de transition vers la crise se caractérisant par l'émergence progressive de décharges pré-ictales qui déclenchent ensuite la crise. Il est donc possible que les mécanismes d'ictogénèse soient altérés *in vitro* (Blauwblomme et al. 2014; de la Prida et Huberfeld 2019).

1.2.3.1. Neurotransmission et genèse des crises épileptiques

Au sein des foyers épileptiques, les réseaux neuronaux sont organisés en groupe de neurones épileptiques interconnectés de manière pathologique. Leur activité anormale semble générer les événements inter-ictaux, les oscillations à haute fréquence et les crises. Au moment de la transition vers la crise, ces groupes vont interagir pour générer des activités ictales. Des mécanismes vont être mis en jeu à la fois au niveau local mais aussi de manière plus étendue au cours de cette phase. Ils vont également pouvoir varier et donc créer des profils électrophysiologiques différents à l'initiation de la crise (Blauwblomme et al. 2014).

Mise en jeu de la transmission glutamatergique

Les décharges inter-ictales (IID) spontanées témoignent de l'épileptogénicité du tissu. Elles surviennent dans les premiers stades de l'épileptogénèse et précède donc largement la survenue des premières crises. Elles favorisent la croissance des prolongements axonaux et induisent des réarrangements moléculaires ainsi que des modifications d'expression de canaux ioniques (Chvojka et al. 2019). Leur présence sur un électroencéphalogramme est un argument pour diagnostiquer une épilepsie. Leur distribution spatiale permet de localiser le foyer épileptique, et de définir plus précisément la zone d'exérèse chez les patients candidats à une chirurgie (Chvojka et al. 2019). Elles sont fréquentes, brèves (quelques dizaines de millisecondes) et généralement de faible amplitude (quelques dizaines de microvolts) (Fig. 9A).

Pallud et coll. ont montré sur des tranches aiguës de cortex prélevées à partir de la marge de sécurité prévue au cours de la résection neurochirurgicale de gliomes que les IID sont initiées par les interneurons qui dépolarisent une partie de la population des neurones pyramidaux (de 40 à 60%) du fait des effets dépolarisants du GABA (Pallud et al. 2014; de la Prida et Huberfeld 2019). Ceux-ci sont liés aux perturbations de l'homéostasie du Cl⁻ que nous avons détaillées précédemment. Les neurones pyramidaux, dont les concentrations en Cl⁻ sont perturbées, déchargent donc pendant les IID sans en être à l'origine. Par ailleurs, les IID sont associées à

une élévation modérée du K^+ extracellulaire, du fait de l'activation du co-transporteur KCC2, qui pourrait être l'élément déclenchant de la transition vers la crise.

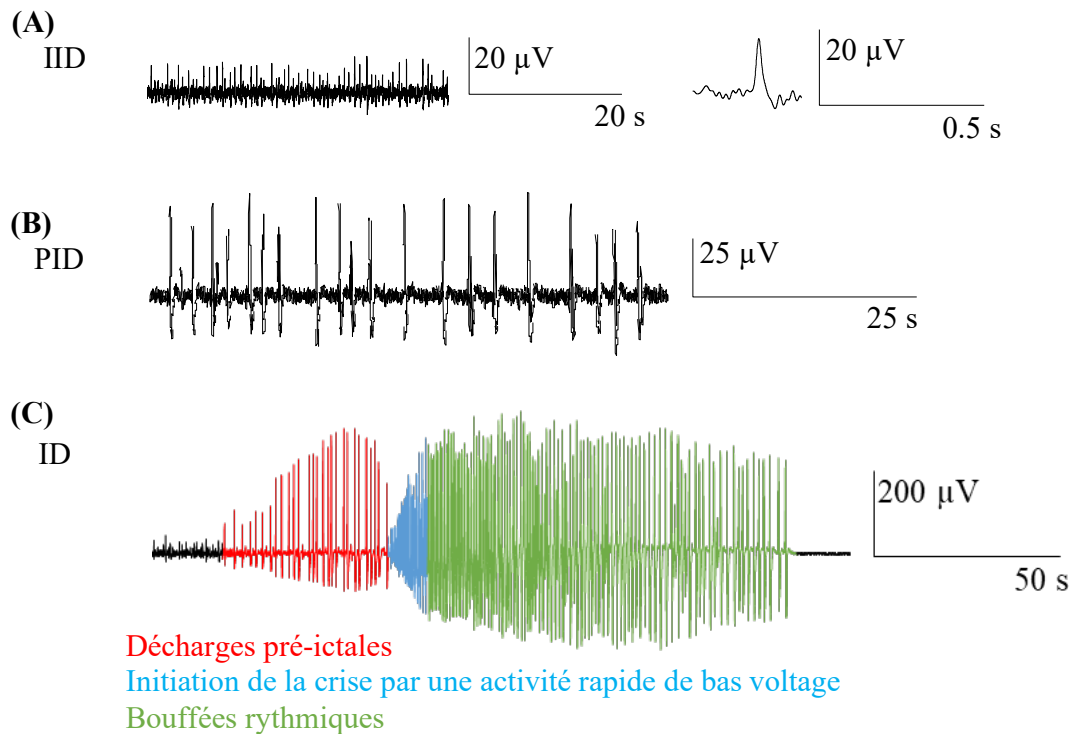


Figure 9 – Activités épileptiques in vitro. (A) Activités inter-ictales spontanées enregistrées en condition de LCR artificiel physiologique, (B) Activités pré-ictales enregistrées en condition de LCR artificiel ictogénique Mg^{2+} 0mM, K^+ 7mM, (C) Exemple de décharge ictale enregistrée en condition de LCR artificiel ictogénique Mg^{2+} 0mM, K^+ 8mM.

La transmission glutamatergique intervient également dans la genèse des IID et la synchronisation des cellules pyramidales. En effet, l'application d'antagonistes des récepteur AMPA supprime les IID. Cependant, d'autres études ont montré que les IID pouvaient avoir un effet antiépileptique, notamment dans des études réalisées sur des préparations portant sur le système limbique, par contrôle des réseaux de déclenchement des crises (Avoli et Barbarosie 1999). L'existence de différents types de décharges inter-critiques, impliquant des réseaux neuronaux, des cellules et des voies de signalisation distincts, pourrait expliquer ces différentes propriétés. De nombreux travaux, dont les résultats sont contradictoires, ont également étudié

la fréquence des IID avant la crise : certaines études ont montré une augmentation de leur fréquence, tandis que d'autres ont au contraire montré une diminution ou une absence de changement de fréquence (Chvojka et al. 2019).

Les décharges pré-ictales (PID) apparaissent *in vitro* progressivement au cours d'une période de transition vers la crise de plusieurs minutes à plusieurs dizaines de minutes et vont déclencher la crise sur les tranches aiguës de cortex prélevées chez des patients atteints de gliomes (Fig. 9B) (Huberfeld et al. 2011; Pallud et al. 2014). Leur dynamique *in vivo* reste inconnue. Elles se caractérisent par des potentiels de champ de grande amplitude, entre 150 et 200 μ V, d'une durée similaire à celle des IID, et qui coexistent avec ces dernières. Lors de cette phase de transition, l'amplitude des PID augmente tandis que celle des IID demeure constante. Les réseaux neuronaux et les voies de signalisation nécessaires à leur genèse sont distincts de ceux des IID. Elles impliquent un nombre plus important de neurones et se propagent plus rapidement que les IID mais sur des zones plus restreintes, limitées à une dizaine de millimètres autour du site d'initiation des crises (Blauwblomme et al. 2014; de la Prida et Huberfeld 2019). Alors que la majorité des neurones pyramidaux sont silencieux lors des IID, ils déchargent intensément lors des PID et en sont à l'origine. La transmission GABAergique est nettement moins impliquée dans leur formation. En effet, l'utilisation d'antagonistes des récepteurs GABA_A, bicuculline ou picrotoxine, supprime les IID mais n'a pas d'effet sur les PID. De même, les voies glutamatergiques empruntées semblent différentes. L'émergence des PID dépend d'une phase initiale de plasticité des synapses excitatrices NMDA-dépendante. En revanche, une fois établies, l'utilisation d'antagonistes des récepteurs NMDA n'a plus d'effet sur les PID, suggérant une implication transitoire de cette voie. Par la suite, la signalisation excitatrice AMPA est prédominante : les antagonistes des récepteurs AMPA interrompent les PID ainsi que les crises (Huberfeld et al. 2011). Enfin, dans les secondes précédant les décharges ictales (ID), les PID s'organisent en clusters à l'origine d'une intense activité des cellules pyramidales qui se synchronisent et mettent secondairement en jeu les interneurons (Blauwblomme et al. 2014).

Au début de la crise, les interneurons déchargent à haute fréquence, tandis que les neurones pyramidaux déchargent souvent de manière éparse ou décalée. Cette phase se traduit par une activité initiale désynchronisée, rapide et de faible amplitude. Elle se poursuit par des bouffées d'activités rythmiques, plus amples et de faible fréquence, très synchrones (Fig. 9C).

L'initiation des décharges ictales nécessite l'intégrité des signalisations glutamatergique, AMPA et NMDA, et GABAergique dépolarisantes (Huberfeld et al. 2011).

Mise en jeu de la transmission GABAergique

Dans des conditions normales, les interneurons exercent un contrôle inhibiteur sur une population locale de neurones grâce à des synapses GABAergiques efficaces. Ils devraient donc avoir un effet anti-épileptique. Les antagonistes des récepteurs GABA_A ont ainsi des propriétés ictogéniques chez les patients qu'ils soient épileptiques ou non. *In vitro*, des IID peuvent être générées en bloquant ces récepteurs, sans toutefois aboutir à des décharges ictales (Blauwblomme et al. 2014).

A ce jour, il n'existe pas de consensus concernant le rôle de la transmission inhibitrice lors des crises. Il est indubitablement complexe et les processus mis en jeu pourraient être multiples. Il existe par exemple différents profils de crises, chacun d'entre eux pourrait impliquer des voies de signalisation ainsi que des réseaux neuronaux différents. Dans le néocortex humain, le profil le plus classique est celui débutant par une phase d'activités rapides de faible voltage. Néanmoins, un autre profil avec une hypersynchronisation initiale est observé, principalement chez les patients présentant une épilepsie temporale mésoiale : la crise débute alors par des activités rythmiques de grande amplitude à une fréquence de 0,5 à 2 Hz. Enfin, le profil de crises peut évoluer au cours du temps chez un même patient, ce qui complexifie encore l'étude de l'ictogénèse. Il est donc probable que l'hétérogénéité morphologique des crises reflète l'hétérogénéité des mécanismes sous-jacents (Weiss et al. 2019).

L'épileptogénèse modifie drastiquement la fonctionnalité de la signalisation GABAergique portée par les interneurons : une partie d'entre eux meurent, les interneurons restants voient au contraire leurs projections axonales se ramifier pour atteindre de nouvelles cibles (Blauwblomme et al. 2014). Il existe globalement un affaiblissement de l'inhibition portée par les interneurons mais ces derniers semblent, paradoxalement, positivement impliqués dans le déclenchement des activités épileptiques. Ils sont à l'origine des IID en excitant les cellules pyramidales *via* les effets dépolarisants du GABA, phénomène identifié dans les épilepsies temporales avec sclérose hippocampique (Cohen et al. 2002), le cortex périctumoral (Pallud et al. 2014) et les dysplasies corticales focales (Blauwblomme et al. 2019). Ils déchargent également à haute fréquence lors de la phase d'initiation de la crise, alors que la fréquence de décharge des neurones pyramidaux est fortement réduite (Derchansky et al. 2008; Gnatkovsky

et al. 2008). Ces observations initialement faites sur des modèles animaux ont été récemment confirmées *in vivo* chez des patients présentant une épilepsie temporale méssiale (Weiss et al. 2019). Ils vont ensuite synchroniser l'activité des cellules excitatrices en imposant un rebond de décharge aux neurones pyramidaux après un courant synaptique hyperpolarisant transitoire (Chang et al. 2018). Au travers de ce rebond d'activité, les neurones GABAergiques peuvent synchroniser une large population de neurones (de Curtis et al. 2019).

Il est possible que l'intense activité des interneurons à l'initiation de la crise soit une réponse mal adaptée. Elle pourrait avoir pour but initial de restreindre la crise mais conduirait en fait à une exacerbation de sa sévérité, notamment en raison de l'augmentation critique des concentrations extracellulaires en K^+ . D'autres études suggèrent que les interneurons pourraient atteindre un plateau de dépolarisation qui pourrait alors conduire à un rebond d'excitation. Il est probable que les deux phénomènes soient intriqués et mènent ensemble à la crise (Weiss et al. 2019).

Par ailleurs, au moment des crises, les HFO pathologiques seraient soutenues par les réseaux neuronaux GABAergiques (Jiruska et al. 2017), ce qui renforce encore l'hypothèse que la perturbation de la transmission GABAergique pourrait être à l'origine des IID mais également des ID (de Curtis et al. 2019).

Dans ce contexte, la transmission GABAergique est fortement altérée. Ses effets dépolarisants, liés à la perturbation de l'homéostasie du Cl^- , génèrent les IID et les ID *in vitro*. En effet, les effets dépolarisants ou hyperpolarisants du GABA dépendent du flux de Cl^- au travers des récepteurs $GABA_A$ post-synaptiques localisés principalement sur les neurones pyramidaux. Une régulation identique a récemment été identifiée dans les interneurons murins exprimant la parvalbumine (Otsu et al. 2020). Comme nous l'avons détaillé précédemment, lorsque la concentration intracellulaire en Cl^- est faible, le GABA entraîne un influx de Cl^- et donc une hyperpolarisation. Lorsque les concentrations intracellulaires en Cl^- augmentent, le potentiel d'équilibre de l'ion s'élève à des niveaux plus positifs que le potentiel membranaire de repos des neurones. Dans ces conditions, la stimulation des récepteurs $GABA_A$ provoque un efflux de Cl^- et donc une dépolarisation qui pourra éventuellement générer un potentiel d'action. Nous rappelons enfin que les concentrations intracellulaires en Cl^- sont régulées par l'activité des co-transporteurs NKCC1 et KCC2 dont les niveaux d'expression sont fortement perturbés au cours de l'épileptogénèse (Blauwblomme et al. 2014).

Par ailleurs, l'activité intense des interneurons conduit à une ouverture prolongée des récepteurs $GABA_A$ entraînant une augmentation de la concentration intracellulaire en Cl^- dans

les neurones pyramidaux qui régulent encore correctement cet ion. Si l'influx ne peut être rapidement dissipé, le Cl^- s'accumule dans la cellule. Il en résulte une modification des gradients électrochimiques et des flux ioniques au travers du récepteur GABA_A qui pourraient alors largement dépendre du HCO_3^- . Ces perturbations aboutissent à une dépolarisation des neurones. Dans le cas des neurones régulant mal le Cl^- , les effets dépolarisants sont déjà présents et se surajoutent (Blauwblomme et al. 2014).

Néanmoins, la crise peut se produire dans des tissus animaux non épileptiques, au sein desquels la régulation neuronale du Cl^- est notamment préservée et les synapses GABAergiques fonctionnelles. Il a ainsi été montré sur des tranches d'hippocampes perfusées par des solutions contenant de la 4-aminopyridine (4AP) et de faibles concentrations en magnésium (Mg^{2+}), permettant d'induire des décharges ictales, qu'à la phase initiale, l'inhibition des neurones est prédominante. Ensuite, lors de la crise en elle-même, la transmission inhibitrice est réduite au profit de la transmission excitatrice qui devient prépondérante : à ce moment-là les interneurones ont atteint une phase de plateau de dépolarisation qui est corrélée à une période transitoire de blocage des potentiels d'action et donc à un affaiblissement de la transmission GABAergique. Cette pause dans l'activité des interneurones favorise le recrutement des neurones pyramidaux. La transmission glutamatergique, ainsi démasquée, est à l'origine de la progression de la crise. Lors de la phase terminale de la crise, les neurones pyramidaux sont à nouveau contrôlés par les interneurones GABAergiques (Köhling et al. 2016; Librizzi et al. 2017; de Curtis et al. 2019).

Par ailleurs, l'intense activité neuronale, tant des interneurones que des cellules pyramidales, conduit à une augmentation de concentration de K^+ extracellulaire qui, si elle excède 10-13 mM, peut inverser les flux ioniques au travers du co-transporteur KCC2 et contribuer à charger davantage les cellules en Cl^- . Cependant lors de la transition vers la crise, les neurones exprimant le co-transporteur KCC2 tentent de réduire leur concentration en Cl^- afin de rétablir une hyperpolarisation GABAergique. L'équilibre thermodynamique du transporteur est modifié et ce faisant, les neurones font sortir du K^+ en même temps que le Cl^- , ce qui contribue à augmenter l'excitabilité locale et à promouvoir une synchronisation épileptiforme en dépolarisant les membranes neuronales, en produisant des potentiels d'action ectopiques, en mettant en résonance des réseaux neuronaux locaux produisant des oscillations dans la bande bêta-gamma et en dépolarisant le potentiel d'inversion des réponses GABAergiques conduisant *in fine* à réduire l'inhibition voire à générer une excitation GABAergique (De Curtis et Avoli 2016). L'ensemble de ces phénomènes semblent se surajouter conduisant à une forte excitation et à une abolition de l'inhibition (Blauwblomme et al. Huberfeld 2014; De Curtis et Avoli 2016;

Schevon et al. 2019). Cependant, l'implication respective des différents acteurs et leur temporalité ne sont pas claires. La levée de répression du co-transporteur NKCC1, chargeant les neurones en Cl⁻ est également en cause : son blocage spécifique par de faibles doses de bumétanide supprime les activités épileptiques *in vitro* (IID et ID) (Pallud et al. 2014).

Les effets dépolarisants du GABA semblent donc cruciaux *in vitro* pour déclencher des activités épileptiques. Il est cependant possible que les préparations en tranche perturbent les concentrations intracellulaires en Cl⁻, augmentant les effets dépolarisants du GABA (Dzhala et al. 2012).

Oscillations à haute fréquence

Il est admis que les *fast ripples* reflèteraient l'activité de réseaux neuronaux dysfonctionnels (Lévesque et Avoli 2019). Certaines études suggèrent que les *ripples* seraient associées aux IID tandis que les *fast ripples* seraient liées aux PID et à l'initiation des crises de type hypersynchronie. Au sein du subiculum humain épileptique *in vitro*, les HFO associées aux IID et aux PID sont comparables dans leur signature fréquentielle alors qu'elles sont associées à des potentiels de champ et à un comportement neuronal différents (Alvarado-Rojas et al. 2015). En ce qui concerne les crises commençant par des activités rapides de bas voltage, les *ripples* pourraient survenir au cours d'une période précédant la crise, et coïncideraient alors avec la survenue de la pointe sentinelle, ainsi qu'au cours de la crise en elle-même. Comme l'activité des *ripples* serait sous-tendue par l'activité des interneurons GABAergiques, ces résultats confirmeraient l'hypothèse de l'implication des interneurons et de la transmission GABAergique lors de l'initiation et du maintien des crises débutant par des activités rapides de bas voltage. Weiss *et al.* ont quant à eux mis en évidence des *fast ripples* immédiatement avant le début de la crise (Weiss et al. 2019; Lévesque et Avoli 2019).

Ces *fast ripples* pourraient correspondre aux décharges synchronisées de groupes de neurones interconnectés de manière pathologique (Weiss et al. 2019) mais la théorie dominante et la plus plausible repose sur une désynchronisation neuronale (Foffani et al. 2007). Les *ripples* semblent ensuite prédominer au cours de la crise en elle-même, avec une prédominance alors de potentiels post-synaptiques inhibiteurs. En effet, on rappelle que les interneurons inhibiteurs déchargent à haute fréquence avant la survenue d'un rebond d'activité des neurones pyramidaux. Cepeda et al. ont récemment montré, sur des tissus humains *ex vivo* issus de l'exérèse chirurgicale de lésions épileptogènes chez des enfants, une association étroite entre les aires cérébrales présentant des HFO et une augmentation de la fréquence des potentiels post-

synaptiques inhibiteurs. Ces aires étaient également corrélées avec la présence de neurones présentant une activité GABAergique de type pacemaker, qui consiste en un profil rythmique d'activités synaptiques médiées par les récepteurs GABA_A qui pourrait être à l'origine de décharges épileptiques rythmiques. Les interneurons GABAergiques localisés dans ces aires présentaient des signes d'hyperexcitabilité avec une fréquence de décharge augmentée. Ces résultats soutiennent donc l'hypothèse de l'implication de la transmission GABAergique dans la genèse des HFO pathologiques (Cepeda et al. 2020).

1.2.3.2. Mécanismes ioniques

L'augmentation de la concentration extracellulaire en K⁺ est associée aux différents types d'activités épileptiques *in vitro* : IID, PID et ID. Différents mécanismes que nous avons précédemment détaillés sont à l'origine de cette augmentation. Tout d'abord, l'activité neuronale contribue à cette élévation : les interneurons ainsi que les cellules pyramidales déchargent à haute fréquence lors de la phase d'initiation de la crise. Librizzi et al. ont ainsi montré sur des cerveaux de cochon d'inde que les décharges ictales débutent par une intense activité des interneurons à l'origine de l'élévation initiale du K⁺ extracellulaire, suivie par l'activation retardée des neurones pyramidaux qui contribue à augmenter encore sa concentration (Librizzi et al. 2017).

L'activité neuronale participerait néanmoins pour une faible part à cette élévation du K⁺. La décharge intense des interneurons et l'activation de la transmission GABAergique qui en résulte pourraient également participer au phénomène : les neurones pyramidaux libèrent de grandes quantités de K⁺ au travers du co-transporteur KCC2 en réponse à l'élévation des concentrations intracellulaires en Cl⁻ (Viitanen et al. 2010; Blauwblomme et al. 2014; Köhling et al. 2016; Schevon et al. 2019). Plusieurs altérations astrocytaires contribuent également à l'augmentation du K⁺ extracellulaire. Les astrocytes libèrent ainsi du K⁺ *via* le transporteur EAAT2 en échange de la recapture du glutamate. La diminution d'expression du canal Kir 4.1 astrocytaire, responsable du tampon potassique extracellulaire, contribue également aux perturbations des concentrations de l'ion. Enfin, l'augmentation de la capture du K⁺ au travers du co-transporteur NKCC1 astrocytaire pourrait altérer le métabolisme de neurotransmetteurs et leur répartition extracellulaire : elle conduit ainsi à un gonflement des cellules, à une augmentation des concentrations intracellulaires en Cl⁻ et à la libération d'acides aminés excitateurs (Blauwblomme et al. 2014).

L'augmentation des concentrations extracellulaires en K^+ favorise les activités épileptiques en augmentant l'excitabilité neuronale et en chargeant les cellules pyramidales en Cl^- du fait de l'inversion du flux au travers de KCC2 (Blauwblomme et al. 2014). Il est également probable que l'élévation du K^+ extracellulaire participe à l'affaiblissement de la transmission GABAergique lors de la phase d'initiation de la crise et donc à la prédominance progressive de la transmission excitatrice (Köhling et al. 2016).

Récemment, il a été montré que l'élévation du K^+ extracellulaire entraîne une dépolarisation des cellules gliomateuses liée à l'entrée de l'ion par le biais de canaux potassiques à rectification entrante, similaires à ceux présents sur les astrocytes. Cette charge ionique est ensuite rapidement dissipée grâce à des jonctions communicantes qui relient les cellules tumorales entre elles au niveau des microtubes tumoraux. Ces courants potassiques sont détectés dans environ 40 % des cellules gliomateuses en réponse à l'activité neuronale. Ils sont synchrones de courants calciques issus de l'activation des récepteurs AMPA présents à la surface d'une partie des cellules. Cette synchronisation pourrait être liée aux jonctions communicantes. Au final, ces vagues de dépolarisation au sein des cellules promeuvent la prolifération tumorale (Venkatesh et al. 2019; Venkataramani et al. 2019), ce qui illustre là encore l'intrication des processus épileptiques et oncologiques dans les gliomes diffus.

En ce qui concerne le Ca^{2+} , sa concentration extracellulaire est réduite (jusqu'à 0,7 mM) au début des crises épileptiques, probablement du fait de son influx dans les cellules pyramidales en pré- et post-synaptique lors de l'activation neuronale, ainsi que dans les astrocytes et les cellules gliomateuses. Ces phénomènes favorisent, encore une fois, l'excitabilité neuronale et la prolifération tumorale (Blauwblomme et al. 2014; Venkatesh et al. 2019).

1.2.3.3. Rôle de l'espace extracellulaire et des champs électriques

La taille et les propriétés de l'espace extracellulaire affectent la transition vers les crises. La survenue d'activités épileptiques tend à faire gonfler les cellules et par conséquent à réduire l'espace extracellulaire. Ceci renforce l'excitabilité neuronale en augmentant la concentration relative en K^+ , et probablement en affectant la concentration intracellulaire en Cl^- et la signalisation GABAergique (Glykys et al. 2014). Les effets sur les concentrations en neurotransmetteurs et leur diffusion ont également tendance à augmenter l'excitabilité neuronale. L'amplification des interactions des champs électriques favorise enfin la synchronisation des décharges neuronales (Blauwblomme et al. 2014).

Les champs électriques créés par la décharge de neurones isolés ou d'un ensemble de cellules pyramidales sont transmis grâce à la conductivité de l'espace extracellulaire. Celui-ci exerce un effet éphaptique, d'une durée de l'ordre de la milliseconde, permettant de recruter d'autres neurones et de les synchroniser. En condition normale, cet effet est faible. En revanche, les potentiels de champs de grande amplitude créés par des populations neuronales étendues peuvent générer des champs électriques avec un gradient suffisamment puissant pour modifier l'excitabilité neuronale et le moment de survenue des potentiels d'action. Au moment de la phase de transition vers la crise, ces mécanismes permettent de synchroniser de larges populations de neurones et favorisent la propagation de l'activité épileptique (Blauwblomme et al. 2014).

1.2.3.4. Implication des astrocytes

Les astrocytes sont impliqués aussi bien dans l'épileptogénèse que dans l'ictogénèse. Ils pourraient contribuer à la genèse d'activités épileptiques grâce à la vague calcique qui se propage au travers du réseau formé par ces cellules. De plus, ils régulent la taille de l'espace extracellulaire grâce à la présence à leur surface d'un canal hydrique, l'aquaporine 4, participant probablement ainsi à l'ictogénèse. En effet, la diminution de son expression est associée à une diminution du volume de l'espace extracellulaire qui favorise la survenue de crises. L'expression des canaux potassiques Kir 4.1, associés à l'aquaporine 4, est également diminuée à la surface des astrocytes participant ainsi à l'élévation des concentrations extracellulaires en K^+ et donc à l'augmentation de l'excitabilité neuronale, comme nous l'avons déjà vu précédemment (Blauwblomme et al. 2014).

Ils ont également un rôle dans le métabolisme du glutamate : ils régulent la transmission excitatrice en condition saine en captant le glutamate libéré dans la fente synaptique grâce aux transporteurs EAAT1 et EAAT2 dont l'expression est diminuée au voisinage des tumeurs. De plus la glutamine synthétase est moins efficace au sein des astrocytes, ce qui conduit à une accumulation de l'acide aminé excitateur (Blauwblomme et al. 2014).

2. PROJET D'ETUDE

Ce projet vise à mieux comprendre la dynamique de concentration du K^+ extracellulaire et du Cl^- neuronal, sous-tendant l'excitabilité locale et l'influence GABAergique à l'émergence des crises au sein du tissu cortical humain épileptique pératumoral. Les concentrations de ces deux ions sont étroitement liées par l'activité des co-transporteurs du Cl^- dont l'expression est modifiée dans le tissu épileptique.

L'implication de NKCC1 semble ambivalente. D'une part, l'activation de ce canal pourrait être pro-épileptique puisqu'il tend à charger les neurones en Cl^- et favorise ainsi les réponses excitatrices au GABA. D'autre part, son activation, notamment astrocytaire, réduit la concentration extracellulaire en K^+ et apparaît, à cet égard, plutôt antiépileptique. En effet, même si, dans la majorité des études, le blocage de NKCC1 par le diurétique bumétanide apparaît antiépileptique (Pallud et al. 2014), de rares travaux rapportent des effets aggravant sur les activités ictales, probablement en rapport avec une réduction du tamponnage potassique astrocytaire (Kilb et al. 2007). De manière intéressante, le TMZ renforce l'activation de NKCC1 par phosphorylation *via* la voie de signalisation WNK1/OSR1/NKCC1 (Zhu et al. 2014). Elle s'avère être la chimiothérapie utilisée dans les gliomes et est plutôt réputée antiépileptique.

L'implication du co-transporteur KCC2 pourrait elle-même s'avérer duale. La baisse d'expression de KCC2 contribue à une mauvaise régulation neuronale du Cl^- et à une excitation GABAergique pro-épileptique (Kelley et al. 2016). Mais lors d'une forte activation GABAergique, la charge neuronale en Cl^- va être évacuée par KCC2, s'accompagnant alors d'un efflux de K^+ pouvant augmenter l'excitabilité locale (Viitanen et al. 2010). De plus, en cas d'augmentation de la concentration extracellulaire en K^+ au-delà de 10 mM, la modification du gradient électrochimique pourrait inverser le flux ionique *via* KCC2 et donc charger les neurones en Cl^- , favorisant les réponses excitatrices au GABA. Ainsi, il a été récemment rapporté que les décharges ictales induites par la 4-amino-pyridine dans l'hippocampe de rongeurs non épileptiques sont bloquées par les antagonistes de KCC2 (VU0240551 et VU0463271) et renforcées par le booster d'activité de KCC2, CLP257 (Hamidi et Avoli 2015).

Dans un tissu réellement remanié et produisant des activités épileptiques comme le tissu humain post-opératoire, il apparaît donc crucial d'étudier les causes et les effets pro-

épileptiques de ces variations d'activité des co-transporteurs KCC2 et NKCC1 en lien avec les concentrations intracellulaires en Cl⁻ et extracellulaires en K⁺.

Une deuxième partie du projet a été consacrée à l'étude des activités épileptiques en lien avec l'accumulation du glutamate extracellulaire. En effet, l'équipe de Harald Sontheimer a montré que les cellules gliomateuses libèrent de très grandes quantités de glutamate *via* le transporteur Xc cystine-glutamate dont l'expression est fortement augmentée à leur surface (Ye et al. 1999). Ce transporteur échange la cystine extracellulaire contre le glutamate. La cystine est ensuite convertie en glutathion, un puissant antioxydant, favorisant ainsi la survie tumorale. Le glutamate participe, quant à lui, à la genèse d'activités épileptiques en se fixant sur les récepteurs AMPA et NMDA, à une excitotoxicité dépendant du NMDA dans le cortex péri-tumoral et à la promotion de la division des cellules tumorales (Robert et al. 2014). Dans ce contexte, inhiber le système Xc cystine-glutamate pourrait conduire à une apoptose des cellules tumorales due à la déprivation en glutathion, à une réduction de la promotion tumorale et à une amélioration de l'épilepsie suite à la diminution de la concentration extracellulaire en glutamate. La sulfasalazine (SAS), un traitement habituellement utilisé pour traiter les patients atteints de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, s'avère être un puissant inhibiteur du transporteur Xc cystine-glutamate (Chung et al. 2005; Buckingham et al. 2011). Ainsi, des enregistrements en patch-clamp de neurones péri-tumoraux réalisés sur des tranches aiguës de cerveaux de souris implantés avec des cellules gliomateuses ont montré une nette diminution des activités épileptiques en termes de durée et d'amplitude après perfusion de SAS à la concentration de 250 µM. Ces résultats ont été ensuite confirmés en perfusant les souris avec le traitement : la fréquence des activités épileptiques, enregistrées grâce à des électrodes EEG intracrâniennes, était significativement diminuée pendant les quatre heures qui suivaient l'administration de SAS. Cependant, une étude plus ancienne a montré que la SAS était un antagoniste non compétitif des récepteurs NMDA (Noh et al. 2006).

Dans ce contexte, il semble important de définir plus finement l'action de la SAS sur les activités épileptiques sur du tissu humain post-opératoire appartenant aux marges de résection de gliomes, mais dépourvu de tumeur, afin de dévoiler si son efficacité sur les crises dépend plutôt de l'effet antagoniste NMDA.

3. MATERIEL ET METHODES

3.1. Patients

Les tissus cérébraux (n = 37 blocs issus de 35 patients) sur lesquels ont été réalisés les expériences d'électrophysiologie proviennent de la marge de sécurité prévue au cours de la résection neurochirurgicale de gliomes de bas grade et de haut grade (Tab. 4). En effet, la chirurgie de ces tumeurs obéit au principe de résection supra-maximale dont les limites sont fixées par les fonctions cérébrales (Pallud et Dezamis 2017). Deux pièces de résection sont issues de tumeurs cérébrales bénignes d'un type histologique différent des gliomes : une tumeur neuro-épithéliale dysembryoplasique (DNET) et un gangliogliome qui est une tumeur mixte neuronale et gliale, mais présentant des remaniements épileptogènes. Deux pièces de résection sont issues de lésions non tumorales (cavernomes), mais présentant également des remaniements épileptogènes.

Les tissus « contrôle » (n = 5) proviennent pour trois d'entre eux de patients présentant des tumeurs cérébrales moins épileptogènes : méningiomes et métastases de cancers extra-cérébraux. Les deux autres ont été extraits à distance d'une tumeur gliale. L'ensemble de ces tissus « contrôle » ont été prélevés sur la voie d'abord neurochirurgicale de tumeurs localisées en profondeur.

Au total, 37 pièces de résection chirurgicale provenant de 35 patients (âge moyen 43 ± 12 ans, étendue 19-70) ont été étudiées, incluant 10 gliomes de bas grade, 16 gliomes de haut grade et 2 gliomes indéterminés. Parmi les patients opérés pour des tumeurs gliales, tous grades confondus, plus de 67 % ont présenté au moins une crise épileptique.

Tableau 3 – Tissus de l'étude. Absence d'activité spontanée (n = 7). Présence d'activité spontanée mais absence d'activité ictale (n = 8). Présence d'activité ictale (n = 15). Tissus « contrôle » (n = 5).

Patient	Âge	Lésion	Epilepsie	Localisation	Mutation IDH
1	59	Oligodendrogliome grade III	Absente	Temporo-insulaire droite	oui
2	59	Oligodendrogliome grade III	Présente	Frontale gauche	oui
3	52	Oligodendrogliome grade II	Présente	Fronto-insulaire gauche	oui
4	31	Oligodendrogliome grade II	Absente	Temporale droite	oui
5	30	Oligoastrocytome grade II	Présente	Frontale gauche	non
6	33	Astrocytome grade II	Présente	Frontale droite	oui
7	42	Oligodendrogliome grade III	Présente	Fronto-cingulaire droit	oui
8	35	Oligodendrogliome grade II	Présente	Frontale gauche	oui
9	64	Oligodendrogliome grade III	Présente	Frontale gauche	oui
10	52	Astrocytome grade III	Absente	Frontale droite	oui
11	31	Astrocytome grade III	Absente	Frontale droite	oui
12	49	Glioblastome	Absente	Temporale droite	non
13	32	Méningiome olfactif	Absente	Frontale droite	non
14	28	Glioblastome	Présente	Temporo-insulaire gauche	oui
15	37	Oligodendrogliome grade III	Présente	Pariétale gauche	oui
16	55	Gliome de grade II	Présente	NC	oui
17	51	Astrocytome grade II	Présente	Temporale gauche	oui
18	39	Cavernome	Présente	Temporale gauche	non
19	55	Glioblastome	Absente	Temporale droite	non
20	51	Oligodendrogliome grade II	Présente	Pariétale inférieure droite	oui
21	59	Astrocytome grade III	Présente	A distance de la tumeur	non
22	59	Gangliogliome grade I	Absente	Temporale gauche	non
23	31	Astrocytome grade III	Absente	Temporale gauche	oui
24	39	Cavernome	Présente	Frontale gauche	non
25	70	Méningiome	Absente	Temporale ptériale droite	non
26	19	DNET	Présente	Temporale droite	non
27	50	Glioblastome	Absente	Temporale gauche	non
28	54	Oligodendrogliome grade III	Présente	Frontale gauche	oui
29	32	Astrocytome grade II	Présente	Temporo-insulaire gauche	NC
30	40	Gliome grade NC	Absente	A distance de la tumeur	NC
31	60	Métastase	Absente	Pariéto-occipitale droite	non
32	30	Gliome grade NC	Présente	Frontale gauche	NC
33	33	Oligodendrogliome anaplasique	Présente	Fronto-calleux gauche	oui
34	29	Gliome grade NC	Absente	Frontale gauche	NC
35	32	Oligodendrogliome grade II	Présente	Temporale et fronto-insulaire droite	oui

DNET : Tumeur neuro-épithéliale dysembryoplasique.

NC : Non connu

3.2. Recueil et préparation des tissus (Dossi et al. 2014)

Après la chirurgie, les tissus sont immédiatement immergés dans un liquide céphalo-rachidien (LCR) artificiel refroidi (1 à 4°C), oxygéné, enrichi en sucrose et magnésium, appauvri en

sodium et calcium (250 mM sucrose, 10 mM D-glucose, 3 mM KCl, 25 mM NaHCO₃, 1 mM CaCl₂ et 10 mM MgCl₂) afin de ralentir leur activité métabolique et diminuer leur excitabilité, assurant ainsi leur viabilité lors du transport du bloc opératoire au laboratoire. Les méninges sont ensuite délicatement retirées. Des tranches de cortex de 400 µm d'épaisseur sont préparées à l'aide d'un vibratome et placées dans une chambre à interface perfusée avec une solution de LCR artificiel physiologique (124 mM NaCl, 3 mM KCl, 26 mM NaHCO₃, 10 mM D-glucose, 1,6 mM CaCl₂, 1,3 mM MgCl₂), oxygénée et maintenue à 37°C (Fig. 10). Les tranches ainsi obtenues sont maintenues au minimum une heure dans ces conditions avant de procéder aux enregistrements électrophysiologiques afin de permettre aux tissus de recouvrer une activité physiologique suite au stress imposé par la chirurgie et la coupe.

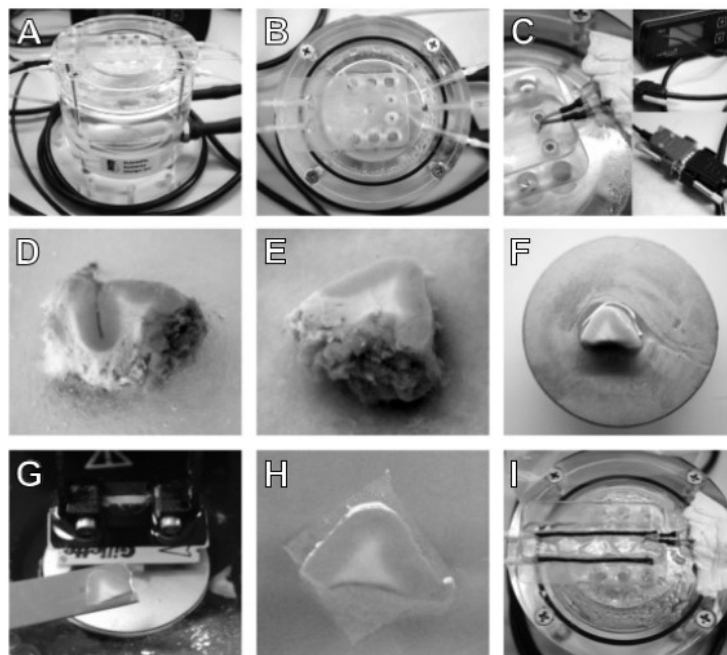


Figure 10 – Matériel et procédure pour la préparation de tranches de tissu cérébral, d'après Dossi et al. 2014.

3.3. Enregistrement extracellulaire en Multi-Electrode Array (Dossi et al. 2014)

Le Micro-Electrode Array (MEA, MultiChannel Systems) est un dispositif constitué par un ensemble de 120 micro-électrodes, mesurant 30 μm de diamètre, disposées régulièrement dans l'espace en une matrice de 12 x 10 avec un espacement de 1500 / 1000 μm et permettant d'enregistrer les activités électrophysiologiques à partir de différentes zones du tissu, à savoir les potentiels de champs locaux (LFP) et les activités multi-unitaires (MUA) (Fig.11). Il permet ainsi d'étudier finement l'organisation spatio-temporelle des activités épileptiques. Cette technique permet d'explorer les mécanismes sous-tendant l'initiation et la propagation des activités épileptiques ainsi que l'effet de drogues sur celles-ci à l'échelle de la cellule et des réseaux neuronaux.

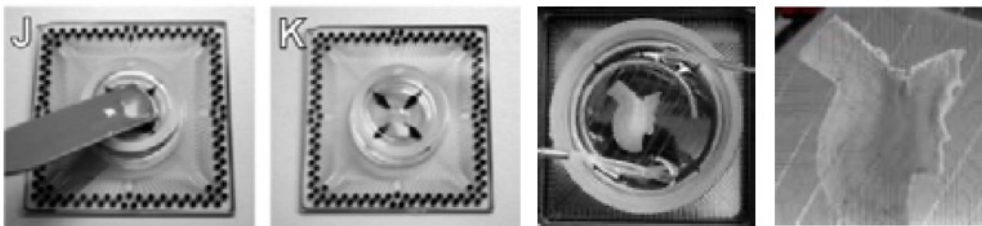


Figure 11 – Enregistrement des tranches de cortex en MEA, d'après Dossi et al. 2014.

Les activités électrophysiologiques sont échantillonnées à 20 kHz et filtrées entre 0,1 et 10 000 Hz (Logiciel MC Rack, MultiChannel Systems). Les chambres de MEA sont perfusées en continu à haut débit (5-6 ml/min) par une solution de LCR artificiel oxygénée à 37°C. Deux types de LCR artificiels sont utilisés : le LCR artificiel physiologique précédemment décrit permettant d'enregistrer des activités spontanées, et le LCR artificiel ictogénique, permettant d'obtenir des activités ictales (Huberfeld et al. 2011). Deux types de LCR artificiels ictogéniques sont utilisés : un LCR artificiel physiologique dépourvu en magnésium additionné de 4-amino-pyridine (50 μM) et un LCR artificiel physiologique dépourvu en magnésium et enrichi en potassium (KCl 6 à 8 mM). VU0240551 (10 μM), VU0463271 (10 μM), CLP257 (100 μM) et SAS (250 μM) sont ajoutés à la solution ictogénique après stabilisation des activités ictales et perfusés pendant quarante minutes à une heure dans la chambre de MEA. A la fin de

chaque enregistrement avec l'une de ces molécules, les tranches sont lavées avec un LCR artificiel icogénique simple (wash-out). Concernant le TMZ, les tranches de tissu ont été incubées pendant une durée minimale de quatre heures dans les chambres à interface perfusées par du LCR artificiel physiologique additionné de TMZ (100 μ M) avant enregistrement dans le MEA. VU0460551, VU0243271, CLP257 et TMZ sont d'abord dissous dans le diméthylsulfoxyde (DMSO, maximum 1%) avant d'être dilués dans les différentes solutions de LCR artificiel.

3.4. Analyse des données

Les données obtenues au cours des enregistrements électrophysiologiques ont été analysées avec le logiciel Clampfit (suite pClamp, Molecular Devices). Les LFP ont été étudiés après application d'un filtre passe-bas de 60 Hz (Butterworth – 8 pôles) et, si nécessaire, un filtre passe-haut de 1 Hz (Bessel – 8 pôles). La durée, la fréquence et l'amplitude des activités inter-ictales ont été analysées en utilisant une détection des événements par seuillage. La durée, la fréquence et l'amplitude des activités ictales sont mesurées manuellement. L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel Prism (GraphPad). Les données sont exprimées en moyenne \pm SEM.

4. RESULTATS

4.1. Données générales sur les activités ictales

37 tissus ont été étudiés. 19 tissus proviennent de patients présentant un gliome associé à une épilepsie clinique, 10 de patients avec un gliome sans épilepsie clinique, 3 de patients avec une lésion épileptogène associée à une épilepsie clinique, 2 de patients avec une lésion épileptogène sans épilepsie clinique. 3 tissus sont issus de patients avec une lésion contrôle non ou peu épileptogène et sans épilepsie clinique. Par ailleurs, 2 tissus contrôles ont été extraits sur la voie d'abord neurochirurgicale de tumeurs gliales localisées en profondeur. De ce fait, ces biopsies réalisées à distance de la lésion tumorale ont été considérées comme des tissus contrôles. 25 tissus ont présenté des activités interictales spontanées, correspondant à 24 / 32 tissus corticaux issus de chirurgie de lésion épileptogène et 1 / 5 tissus contrôles. Parmi ces 25 tissus avec IID spontanées, 9 ont uniquement présenté une activité spontanée, 5 tissus corticaux issus de chirurgie de lésion épileptogène ont présenté des ID qui se sont rapidement interrompues et 10 tissus (pour un total de 12 tranches) ont généré des ID récurrentes permettant de les moduler pharmacologiquement. Une seule tranche issue d'un tissu contrôle a présenté des IID spontanées ainsi que 2 crises suivies de PID continues. Le nombre restreint de tissus avec ID récurrentes est en grande partie due à des difficultés techniques survenues au cours des expériences. Les ID ont été induites dans différentes conditions : $0 \text{ Mg}^{2+} / \text{KCl } 6\text{-}8 \text{ mM}$ ($n = 11$ tranches issus de 10 tissus), ou $0 \text{ Mg}^{2+} / 4\text{-Aminopyridine}$ ($n = 1$). Elles sont caractérisées par une grande variabilité en ce qui concerne leur organisation, leur fréquence, et leur durée, indépendamment du sous-type histologique, du grade ou de la localisation cérébrale (Fig. 12A). Le type de solution ictogénique utilisé n'a pas influencé le profil des crises : elles sont précédées d'un cluster de PID et comprennent une phase variable d'activité rapide, peu synchrone et peu ample évoluant secondairement vers une phase constante de bouffées rythmiques. La durée des crises, mesurée à partir de l'activité rapide initiale, a été en moyenne de $26,85 \pm 16,79 \text{ s}$, variant de $8,92 \pm 2,92 \text{ s}$ à $139,56 \pm 94,78 \text{ s}$. La fréquence des crises, mesurée entre le début de deux crises successives a été en moyenne de $0,82 \pm 0,57 \text{ crises/min}$ variant de 0,13 à 1,71 crises/min. Il n'existe cependant pas de différence significative de durée ou de fréquence entre les différentes conditions (Fig. 12B, test de Student : durée des crises $p = 0,2968$; fréquence des crises $p = 0,1743$; $n = 105$ crises).

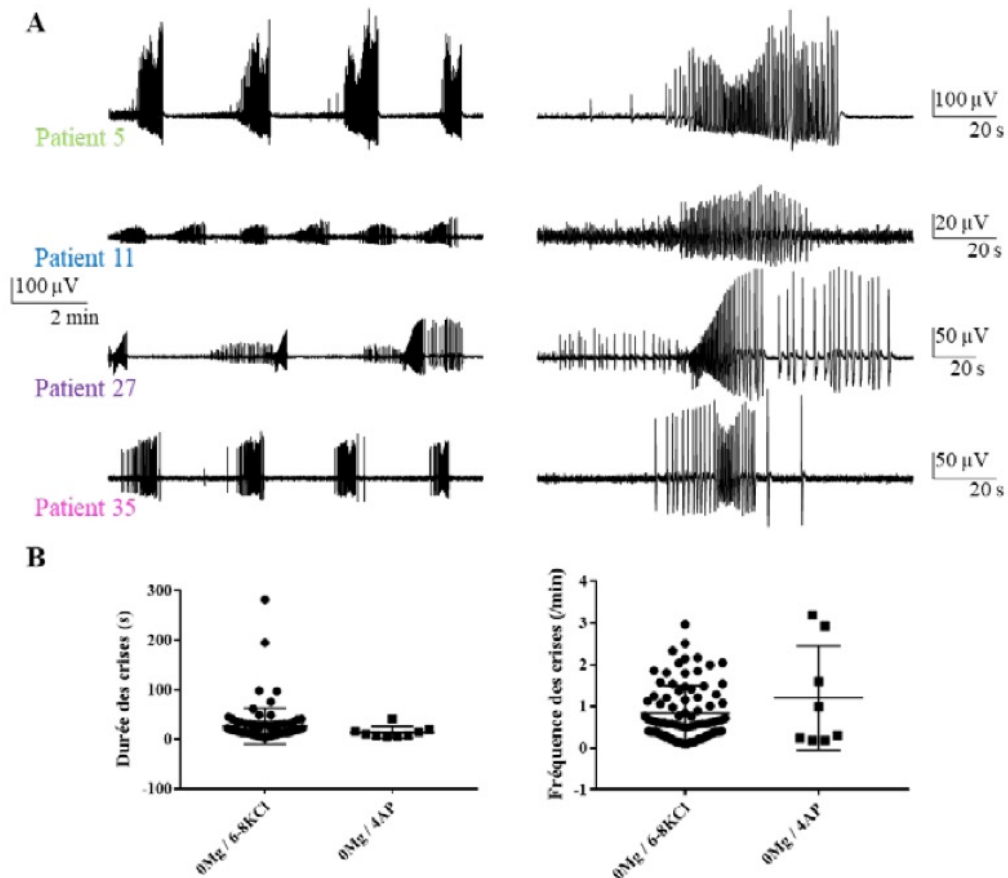


Figure 12 – Organisation des crises. (A) Enregistrements extracellulaires en condition de LCR artificiel ictogénique 0 Mg²⁺ / 7-8 mM KCl. **Patient 5**, **Patient 27** et **Patient 35** : crises avec phase d'initiation par PID, phase de haute fréquence et faible amplitude suivie de bouffées rythmiques. **Patient 11** : crises fréquentes, courtes et de faible amplitude. (B) Variabilité inter- et intra-tissulaire en termes de durée des crises et de fréquence des crises.

4.2. Modulation pharmacologique de KCC2

4.2.1. Blocage de l'activité de KCC2

Nous avons étudié l'effet de deux antagonistes sélectifs de KCC2, VU0240551 (10 μ M) et VU0463271 (10 μ M) sur les ID enregistrées sur n = 4 tranches (issues de 3 tissus). Ces concentrations ont été déterminées *in vitro* chez des rongeurs non épileptiques (Kelley et al. 2016; Hamidi et Avoli 2015). 5 à 16 minutes après le début de la perfusion des molécules, les ID s'interrompent, seules des PID persistent (Fig. 13). La faible solubilité de la drogue VU0240551 dans le LCR artificiel explique l'échec du lavage après son application sur le tissu 18. Nous avons par la suite abandonné cette molécule et utilisé uniquement le VU0463271 qui présente l'avantage d'une meilleure solubilité et d'une plus grande sélectivité d'action (Delpire et al. 2012).

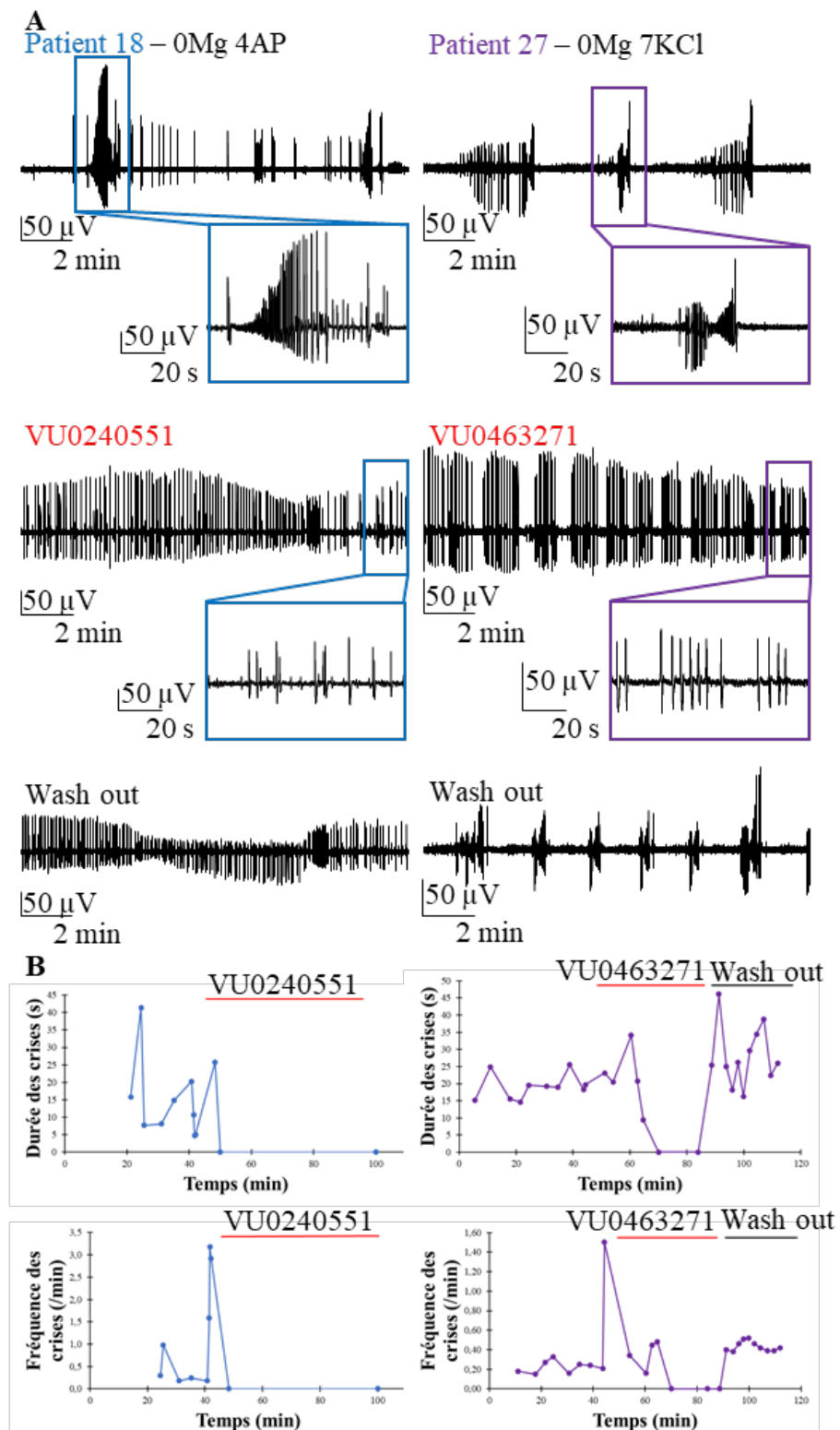


Figure 13 – Effet des antagonistes de KCC2 sur les décharges ictales. (A) Enregistrements cellulaires sur les tissus 18 (VU0240551) et 27 (VU0463271). (B) Effet des antagonistes de KCC2 sur la durée et la fréquence des crises.

4.2.2. Renforcement de l'activité de KCC2

Nous avons ensuite étudié l'effet du CLP257 (100 μM), booster d'activité de KCC2 sur les ID enregistrées sur $n = 2$ tranches (issues de 2 tissus) et dont la concentration efficace a été précédemment déterminée *in vitro* sur le cortex de rats non épileptiques (Hamidi et Avoli 2015). 7 à 12 minutes après le début de la perfusion de la molécule, les ID s'interrompent, laissant place à des PID (Fig. 14).

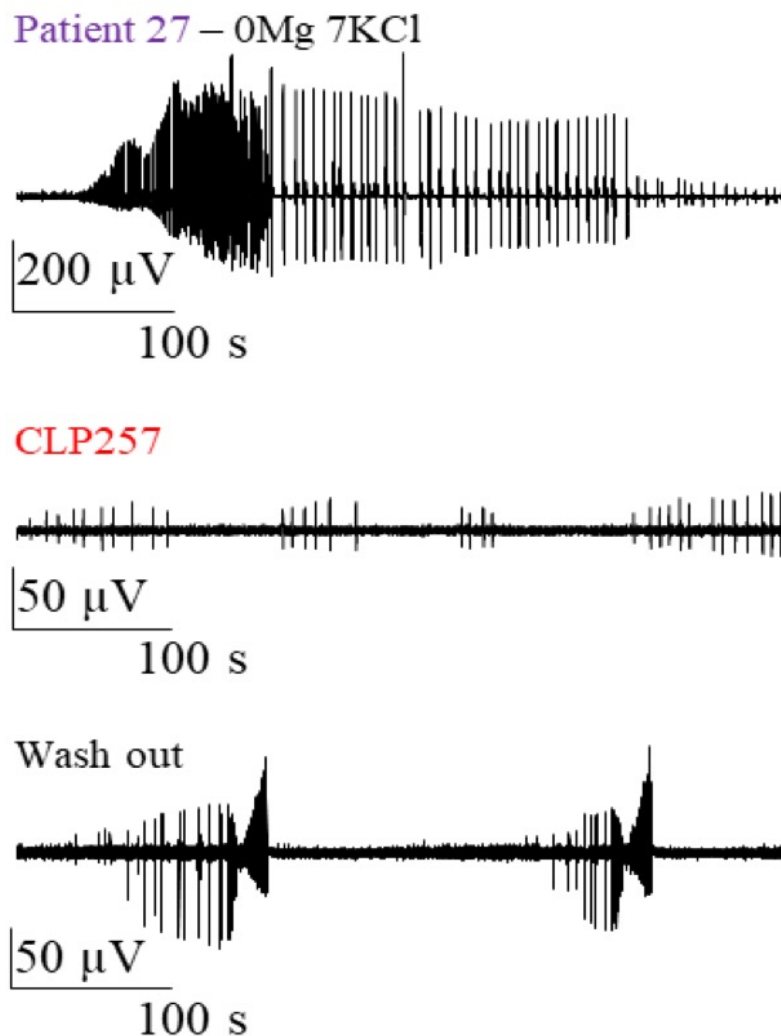


Figure 14 – Effet du renforcement de KCC2 sur les décharges ictales. Enregistrements extracellulaires sur le tissu 27.

4.3. Modulation pharmacologique de NKCC1

Nous avons étudié l'effet du TMZ (100 μ M) sur les IID et ID enregistrées sur $n = 4$ tranches (issues de 2 tissus). Cette concentration correspond à celle mesurée dans le sérum au cours des chimiothérapies des gliomes (Zhu et al. 2014). La durée et la fréquence des crises ont été mesurées dans des tranches différentes issues du même bloc post-opératoire du fait de la nécessité d'une incubation de 4 heures dans le TMZ (réalisée durant la phase d'interface) (Fig. 15).

La durée des crises a augmenté de $19,25 \pm 1,402$ s ($n = 24$ crises issues de 2 tranches de 2 blocs) en condition contrôle à $43,88 \pm 4,741$ s ($n = 56$ crises issues de 4 tranches de 2 blocs) en condition TMZ ($p = 0,0012$, test de Student). La fréquence des crises a également augmenté de $0,54 \pm 0,07$ crises/min en condition contrôle à $1,06 \pm 0,13$ crises/min en condition TMZ ($p = 0,0153$, test de Student).

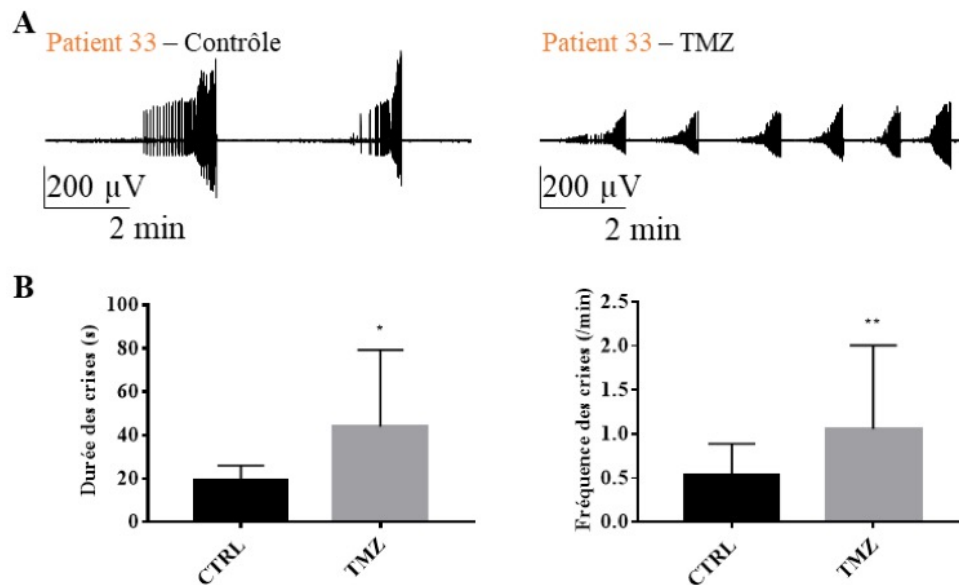


Figure 15 – Effet du renforcement de NKCC1 sur les décharges ictales. (A) Enregistrements extracellulaires sur le tissu 33. **(B)** Effet du TMZ sur la durée et la fréquence des crises en condition ictogénique. * $p = 0,0012$; ** $p = 0,0153$.

4.4. Modulation pharmacologique des récepteurs NMDA

Nous avons étudié l'effet de la SAS (250 μM) sur les IID enregistrées sur $n = 1$ tranche en condition physiologique et les ID enregistrées sur $n = 2$ tranches (issues de 2 tissus). Sur le tissu 35, en LCR artificiel physiologique, les IID (Contrôle : $n = 438$; SAS : $n = 617$) ne semblent pas affectées par la SAS en ce qui concerne leur amplitude ($-6,94 \pm 0,09 \mu\text{V}$ vs. $-6,84 \pm 0,07 \mu\text{V}$; $p = 0,3553$, test de Student) et leur fréquence ($2,43 \pm 0,32 \text{ IID} / \text{s}$ vs. $1,91 \pm 0,26 \text{ IID} / \text{s}$; $p = 0,2097$, test de Student). Cependant, la durée des évènements a significativement diminué de $18,33 \pm 0,33 \text{ ms}$ en condition contrôle à $15,28 \pm 0,24 \text{ ms}$ en condition SAS ($p < 0.0001$, test de Student). La SAS interrompt sans délai les ID ($n = 2$), ne laissant persister que les PID, connues pour être dépendantes de la signalisation AMPA (Fig. 16).

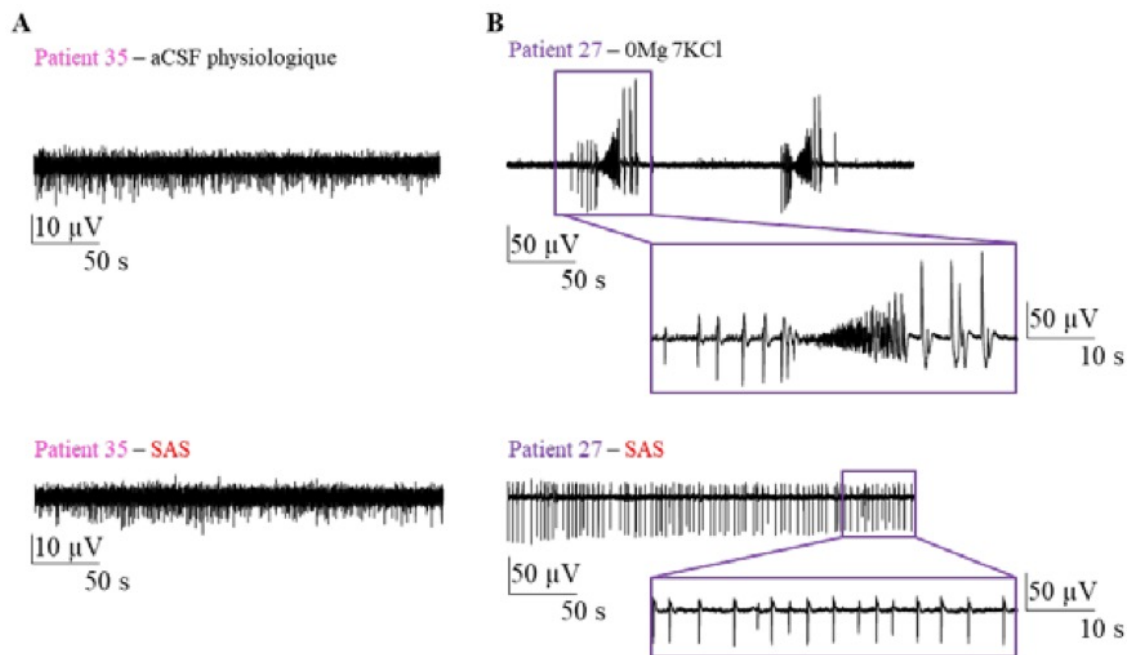


Figure 16 – Effet de la SAS sur les décharges interictales (A) et les décharges ictales (B).

5. DISCUSSION

Cette étude a pour objectif principal d'étudier, sur des tissus humains remaniés et épileptiques, l'impact du niveau d'activité des co-transporteurs KCC2 et NKCC1 sur les activités ictales, en lien avec les concentrations intracellulaire en Cl^- et extracellulaire en K^+ . Ces co-transporteurs sont les agents de la régulation des effets du GABA pour le Cl^- et de l'excitabilité locale pour le K^+ .

Concernant NKCC1, une étude précédente du laboratoire a montré que son blocage par le bumétanide induisait une interruption des crises (Pallud et al. 2014). Cette nouvelle étude a mis en évidence que le renforcement de l'activité du co-transporteur par le TMZ conduit à une augmentation de la durée et de la fréquence des crises. Ces résultats semblent donc contredire les données cliniques sur l'effet plutôt anti-épileptique du TMZ. Ils soulignent également l'importance de l'homéostasie du Cl^- intracellulaire et de son rôle au cours de l'ictogénèse. Pendant la période inter-critique, l'augmentation d'expression de NKCC1 contribue à charger les neurones pyramidaux en Cl^- , conduisant ainsi aux effets dépolarisants du GABA et donc à la genèse d'activités interictales. Lors de l'initiation des crises en condition d'hyperexcitabilité, le blocage de NKCC1 aboutit à l'interruption des crises en empêchant l'entrée de Cl^- dans les neurones. De ce fait, en maintenant le Cl^- à de faibles concentrations, la transmission GABAergique retrouve ses propriétés inhibitrices. Par ailleurs, dans ces conditions, cet effet semble surpasser celui de l'augmentation des concentrations extracellulaires en K^+ , évacué de la cellule conjointement avec le Cl^- . A contrario, le renforcement de l'activité de NKCC1 entraîne une élévation des concentrations intracellulaires en Cl^- conférant à la transmission GABAergique des propriétés excitatrices. Ces résultats confirment donc le rôle pro-épileptogène du Cl^- au cours de l'ictogénèse. La réalité de l'effet sur les concentrations neuronales en Cl^- et extracellulaires en K^+ restent à démontrer.

Nous avons montré que le renforcement aussi bien que le blocage de l'activité de KCC2 aboutissaient à une interruption des crises. En phase inter-critique, la diminution d'expression de KCC2 à la surface de plus de la moitié des cellules pyramidales du cortex périmumoral a pour conséquence une augmentation des concentrations intracellulaires en Cl^- , ce qui conduit aux effets dépolarisants du GABA et donc à la genèse d'activités inter-ictales. Lors de la phase de transition vers la crise, les interneurones déchargent à haute fréquence, augmentant la pression GABAergique sur les neurones pyramidaux, ce qui contribue à les charger en Cl^- . La diminution d'expression de KCC2 intervient alors en renforçant les effets dépolarisants du GABA comme

le confirme nos résultats : l'amplification de l'activité du co-transporteur a interrompu les crises. Nos données soulignent également le rôle de l'élévation des concentrations en K^+ sur l'excitabilité locale : le blocage de l'efflux du Cl^- et du K^+ au travers du co-transporteur conduit là encore à une interruption des activités ictales. De plus, l'augmentation d'activité des interneurons contribue en elle-même à l'accroissement des concentrations extracellulaires en K^+ responsable d'une hyperexcitabilité locale. Lorsque les concentrations en K^+ atteignent un niveau suffisant, les flux ioniques au travers de KCC2 vont s'inverser, chargeant alors les neurones en Cl^- et diminuant les concentrations extracellulaires en K^+ . Ceci explique l'interruption des crises par l'antagoniste de KCC2.

La diminution de l'expression de KCC2 et l'augmentation de celle de NKCC1 dans le cortex humain pératumoral entraîne une perturbation de l'homéostasie du Cl^- qui favorise la genèse d'activités épileptiques via les effets dépolarisants du GABA (Fig. 17).

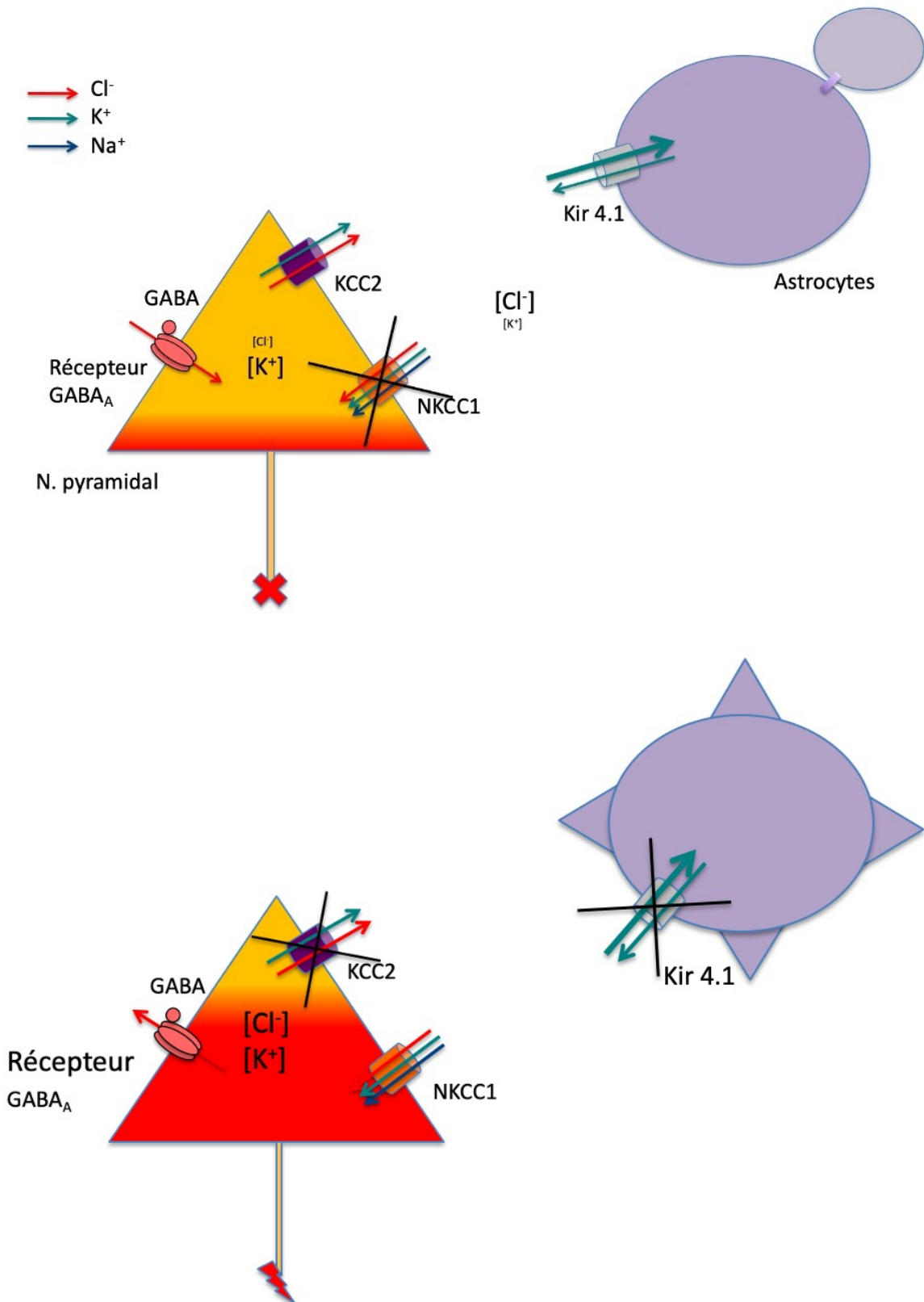


Figure 17 - Synthèse des perturbations de l'homéostasie du Cl⁻ et du K⁺ au sein du cortex péritumoral. (A) Signalisation inhibitrice et régulation du Cl⁻ neuronal dans le cortex sain. (B) Perturbation de l'homéostasie du Cl⁻ et du K⁺ dans le tissu épileptique conduisant aux effets dépolarisants du GABA.

La seconde partie de cette étude s'intéresse au mécanisme d'action de la SAS sur les activités épileptiques. La molécule ne semble pas avoir d'effet sur les IID, qui dépendent des effets dépolarisants de la signalisation GABAergique et de la transmission glutamatergique AMPA. De plus, elle ne semble pas affecter la signalisation glutamatergique AMPA puisque les PID persistent. En revanche, elle interrompt immédiatement les crises. La cinétique d'action, très rapide, et le fait que la SAS bloque les crises dans du cortex isolé, sans infiltration par des cellules tumorales – qui expriment le système Xc cystine-glutamate à l'origine d'une libération importante de glutamate dans l'espace extracellulaire – vont dans le sens d'un effet antagoniste NMDA. Un effet sur la libération de glutamate par les astrocytes normaux exprimant le transporteur Xc cystine-glutamate ne peut être formellement exclu.

Ces résultats suggèrent que l'effet anti-épileptique de la sulfasalazine dans le contexte des gliomes résulte au moins en partie de son action antagoniste sur les récepteurs NMDA, relativisant l'implication du système Xc cystine-glutamate. Néanmoins, le potentiel thérapeutique de la sulfasalazine reste majeur, à la fois anti-épileptique et anti-oncogène si son double mécanisme d'action était confirmé.

Ces résultats nécessitent d'être confirmés, notamment en ce qui concerne le TMZ. En effet, il serait pertinent de tester les différentes molécules sur un plus grand nombre de tissus péri-tumoraux afin de prendre en compte la grande variabilité inter- et intra-tissulaire. De plus, notre modèle *ex vivo* comporte ses propres limites. Tout d'abord, les connexions synaptiques sont réduites sur les tranches, de même que l'influence des aires cérébrales à distance. La préparation des tranches altère également le tissu : elle pourrait perturber l'homéostasie du Cl⁻ dans les neurones superficiels et induire artificiellement des réponses excitatrices à la stimulation GABAergique. Néanmoins ces activités n'ont jamais été enregistrées sur des tranches aiguës de cerveaux d'animaux, ni sur des tissus contrôles non épileptiques humains. Par ailleurs, les activités épileptiques sont enregistrées en profondeur dans les tranches alors que les perturbations affectant la régulation du Cl⁻ liées à la procédure n'ont été observées que 50 µm sous la surface de la tranche (Pallud et al. 2014; de la Prida et Huberfeld 2019). Enfin, nous avons enregistré des crises sur certains tissus alors qu'aucune épilepsie clinique n'avait été détectée chez les patients. Il est possible que ces crises soient trop restreintes *in situ* et n'atteignent pas le seuil de propagation. Il est également possible que l'épilepsie ne soit pas diagnostiquée ou que son expression clinique soit retardée chez les patients atteints de gliomes (Robert et Sontheimer 2014).

Ces projets, et particulièrement l'étude sur les co-transporteurs NKCC1 et KCC2, peuvent être poursuivis sous différents aspects. Cette étude soulève des questions sur la chimiothérapie des gliomes, le TMZ, qui se révèle plutôt pro-épileptique *ex vivo*. Tout d'abord, les tranches ont été incubées pendant quatre heures dans les chambres à interface puis enregistrées sur le MEA dans des chambres perfusées par du LCR artificiel physiologique puis ictogénique. Cependant, NKCC1 présente un renouvellement rapide à la membrane. Nous pouvons donc nous interroger sur la proportion de co-transporteurs phosphorylés – et donc activés – au cours de nos expériences. Il serait donc intéressant d'enregistrer les tranches après incubation en les perfusant avec du LCR artificiel physiologique ou ictogénique additionné de TMZ. Il est possible que les activités épileptiques soient ainsi déclenchées en LCR artificiel physiologique ou en réduisant la stimulation ictogénique avec des concentrations plus faibles en K^+ par exemple.

Ensuite, si le caractère pro-épileptique du TMZ est confirmé, la chimiothérapie présenterait d'une part un risque d'effet indésirable majeur pour les patients et d'autre part une efficacité anti-tumorale incomplète – puisqu'en renforçant l'activité de NKCC1 il contribuerait à la croissance des gliomes. En conséquence, il serait intéressant de savoir s'il est possible de contrebalancer cette phosphorylation activatrice de NKCC1 en bloquant le co-transporteur. En perfusant le LCR artificiel physiologique puis ictogénique additionné de bumétanide – antagoniste spécifique de NKCC1 à faible dose – sur des tranches de tissu péri-tumoral humain enregistrées en MEA, nous pourrions mettre en évidence une modulation éventuelle des activités ictales déclenchées par le TMZ.

Le lien apparaît évident entre le Cl^- intracellulaire et le K^+ extracellulaire. Il devient donc indispensable d'étudier les taux et la dynamique de la concentration extracellulaire en K^+ au cours de l'ictogénèse. Les valeurs et la fluctuation de la concentration en K^+ , mesurée grâce à des électrodes sensibles aux ions, pourraient être corrélées aux IID spontanées et ID induites enregistrées sur des tranches de tissu péri-tumoral humain à l'aide d'un MEA, ainsi qu'à l'expression des co-transporteurs NKCC1, KCC2 et du canal Kir 4.1. De même, la capacité tampon vis-à-vis du K^+ du tissu péri-tumoral peut être étudiée en augmentant localement la concentration en K^+ à 10 mM. A ce niveau, la modification du gradient électrochimique pourrait inverser le flux ionique au travers de KCC2, avec pour conséquence de charger les neurones en Cl^- et donc de favoriser les réponses excitatrices au GABA.

Les techniques d'optogénétique pourraient apporter des données intéressantes concernant l'équilibre entre les transmissions inhibitrice et excitatrice au moment des crises grâce à leur

excellente résolution temporo-spatiale (Weiss et al. 2019). Gonzáles et al. ont ainsi confirmé le rôle des interneurons lors de l'initiation des décharges ictales : la stimulation d'interneurons à parvalbumine ou à somatostatine a permis de déclencher des décharges ictales dans le cortex entorhinal de rongeurs après application de 4AP. Par ailleurs, en diminuant l'activité de KCC2, la stimulation des interneurons n'est plus capable de déclencher des crises, ce qui souligne l'implication de la dysrégulation du Cl⁻ intracellulaire et du K⁺ extracellulaire dans l'apparition d'activités épileptiques. Cette étude met donc en évidence que le rôle pro-convulsivant de la transmission GABAergique et plus particulièrement de la voie de signalisation du récepteur GABA_A est sous-tendue par l'activité du co-transporteur KCC2. Dans ce contexte, l'activation synchrone des interneurons inhibiteurs pourraient conduire à une augmentation suffisante du Cl⁻ intracellulaire dans les neurones pyramidaux pour activer KCC2. En libérant de grandes quantités de K⁺ dans l'espace extracellulaire, le co-transporteur pourrait induire le développement de crises. Selon ce modèle, les auteurs suggèrent que les activités épileptiques résulteraient exclusivement d'une augmentation des concentrations extracellulaires en K⁺. Le GABA dépolarisant ne serait plus nécessaire et la transmission GABAergique conserverait alors ses propriétés inhibitrices (González et al. 2018).

La perturbation de l'homéostasie du Cl⁻ dans des neurones murins en culture obtenue en contrôlant le transport du chlorure grâce à des techniques d'optogénétique a permis de déclencher des activités épileptiques mais uniquement après l'adjonction de 4AP. Ceci suggérerait que la dysrégulation du Cl⁻ est nécessaire mais non suffisante dans les processus d'ictogénèse (Schevon et al. 2019).

Les techniques d'optogénétique ont aussi permis de montrer que l'activation des cellules GABAergiques contribue à l'entretien de la crise mais qu'elle pourrait également jouer un rôle inhibiteur plus classique permettant l'arrêt de la décharge (De Curtis et Avoli 2016). Il a ainsi été montré que la stimulation par optogénétique de la transmission inhibitrice au travers des neurones granulaires du gyrus denté au moment de la phase de décharge des neurones pyramidaux conduit à une diminution de la durée de la crise et prévient une généralisation secondaire (Weiss et al. 2019). La synchronisation des interneurons GABAergiques est également très étudiée : au cours de la phase initiale de la crise avec les activités rapides de bas voltage, ils pourraient être synchronisés par différents mécanismes impliquant les récepteurs muscariniques et métabotropiques au glutamate, mais aussi par le biais de jonctions communicantes les unissant (De Curtis et Avoli 2016). Toutefois, ce dernier point n'est pas encore clairement élucidé.

Concernant les HFO, l'optogénétique a permis de formuler une hypothèse alternative : les *fast-ripples* seraient générés par les neurones pyramidaux qui déchargeraient de manière déphasée plutôt que par des groupes de neurones interconnectés de manière pathologique. En effet, la stimulation par optogénétique des cellules pyramidales dans le cortex entorhinal a ainsi déclenché des crises avec un taux élevé de *fast-ripples*. En revanche, ils n'ont pas pu être mis en évidence dans les crises débutant par des activités rapides de bas voltage (Weiss et al. 2019). Néanmoins l'optogénétique présente également des limites. Tout d'abord la plupart des études sont réalisées sur le cerveau d'animaux sains chez lesquels a été induit pharmacologiquement une épilepsie. On peut dès lors s'interroger sur l'extrapolation des données obtenues sur un tissu remanié épileptique dans lequel les connexions synaptiques ainsi que les transmissions inhibitrices et excitatrices ont été fortement altérées. De plus, la mise en œuvre de ces techniques implique l'illumination d'une grande surface de tissu cérébral avec mise en jeu à la fois d'interneurones sains et d'interneurones pathologiques.

Les modélisations informatiques des réseaux neuronaux et de leur perturbation n'ont pas été abordées mais représentent un champ important de la recherche sur l'épilepsie. L'intégration des données expérimentales récentes permet d'étudier finement les réseaux neuronaux mis en jeu.

Enfin, la survenue d'une épilepsie revêt un intérêt particulier chez les patients atteints de gliomes car elle est un marqueur pronostic lorsqu'elle survient précocement. En effet, dans la cohorte étudiée par Pallud et al. portant sur 708 patients avec une tumeur de bas grade ayant secondairement évoluée vers un haut grade, la présence de crises épileptiques au moment du diagnostic était associée de manière indépendante à une survie sans progression vers la malignité plus longue ($p < 0,001$). La transformation maligne d'un gliome de bas grade est survenu à $65,1 \pm 54,8$ mois versus $39,5 \pm 28,3$ mois respectivement dans les groupes avec ou sans épilepsie (Pallud et al. 2014). L'épilepsie précoce est également un marqueur de bon pronostic dans le cas des glioblastomes mais ceci pourrait être expliqué du fait de son association avec un âge plus jeune au diagnostic, un meilleur état de santé global, et une taille inférieure de la tumeur, qui sont tous des facteurs favorables indépendants de survie (Huberfeld et Vecht 2016). L'existence de mutations IDH pourrait également être en jeu. En revanche, la survenue de crises épileptiques au cours de l'évolution des gliomes tend à marquer la progression vers la phase terminale dans 30 à 50 % des cas de gliomes malins (Huberfeld et Pallud 2015). Pour les tumeurs de bas grade, la réapparition de crises après une période libre

d'au moins 6 mois est un marqueur de progression chez environ 50 % des patients (Englot et al. 2016).

Les tumeurs de haut grade qui sont révélées par des crises sont donc généralement de plus petite taille que celles révélées par d'autres symptômes, notamment les déficits neurologiques focaux. Au contraire, les tumeurs de bas grade qui se présentent avec des crises sont plus grandes que celles sans épilepsie. Il semblerait que la vitesse de croissance influence la survenue d'une épilepsie : plus la tumeur croît lentement, plus elle va permettre le développement de modifications fonctionnelles au sein du cortex péri-tumoral (De Groot et al. 2012). Par contre, concernant les tumeurs de haut grade, la croissance rapide pourrait être à l'origine d'agressions tissulaires aiguës, expliquant davantage l'apparition de crises (van Breemen et al. 2007), alors qu'une destruction neuronale massive ou l'absence de temps de mise en place des processus d'épileptogénèse pourrait contribuer à une réduction de prévalence de l'épilepsie dans les tumeurs très agressives. Les facteurs sous-tendant ce meilleur pronostic sont certainement aussi multiples. Il est aussi possible que la survenue d'une épilepsie conduise à un diagnostic et donc à une prise en charge plus précoce des gliomes (Englot et al. 2016), même si dans la série de Pallud et col. (Pallud et al. 2014), l'existence d'une épilepsie retardait étonnamment tant le diagnostic que la prise en charge.

Traiter l'épilepsie revêt une importance particulière dans le cas des gliomes puisque diminuer l'excitotoxicité dans le cortex péri-tumoral pourrait permettre de freiner la croissance de la tumeur (Huberfeld et Vecht 2016). En effet, différentes études ont montré que l'activité neuronale excitatrice peut influencer la croissance tumorale en augmentant la prolifération cellulaire (Venkatesh et al. 2015, 2019; Venkataramani et al. 2019; Tantillo et al. 2020). Elle n'exercerait cependant aucun effet sur la mort cellulaire des cellules tumorales. La sécrétion de NLGN3, régulée par l'activité neuronale, semble être essentielle dans cette interaction entre le microenvironnement et la tumeur. Elle est directement impliquée dans la formation de synapses excitatrices à la surface d'une sous-population de cellules de glioblastome dont la dépolarisation va promouvoir la prolifération tumorale (Venkatesh et al. 2019). L'expression de NLGN3 est même étroitement et inversement corrélée à la survie globale dans le cas des gliomes de haut grade. Dans une étude portant sur 429 cas de glioblastomes chez des adultes, les patients dont la tumeur exprimait un taux de NLGN3 inférieure à la médiane présentaient une survie moyenne de 20,8 mois (IC_{95%} [17,1 – 24,4]) *versus* 15,2 mois (IC_{95%} [13,1 – 17,2]) chez ceux dont la tumeur exprimait un taux de NLGN3 supérieure à la médiane (Venkatesh et al. 2015) (Fig. 17). Très récemment, des synapses *bona fide* de neurones glutamatergiques sur des cellules de glioblastome ont été révélées à partir de biopsies de tumeurs humaines et

reproduites chez des souris xénotransplantées (Venkataramani et al, 2019 ; Venkatesh et al, 2019). Ces synapses sont localisées à des sites spécifiques dans les cellules tumorales, appelées microtubules, reliés par des jonctions communicantes et reliant les cellules de gliome en réseaux. Elles sont principalement composées de récepteurs AMPA perméables au Ca^{2+} et ont une influence directe sur la croissance des tumeurs. Le glutamate promeut ainsi la croissance tumorale tant par voie extrasynaptique, ambiante que synaptique. Le renforcement de cette activité synaptique glutamatergique par optogénétique ou up-régulation des sous-unités AMPA impliquées renforce la croissance tumorale alors que la réduction des activités cérébrales (anesthésie) ou la down-régulation des sous-unités AMPA impliquées a un effet anti-tumoral. Dans ce contexte, le perampanel, un antagoniste sélectif non compétitif des récepteurs AMPA pourrait présenter un potentiel effet anti-tumoral du fait de la présence de ces récepteurs au niveau des synapses neurogliomateuses. Son administration dans un modèle murin xénotransplanté avec des cellules de glioblastome a permis de diminuer la prolifération tumorale (Venkataramani et al. 2019) (Fig. 18). Les molécules étudiées représentent également de potentiels traitements de l'épilepsie. Contrairement aux traitements actuels, elles ciblent spécifiquement les processus impliqués dans l'ictogénèse. La SAS, utilisée depuis de nombreuses années dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, présente un intérêt majeur : en agissant d'une part sur les récepteurs NMDA et d'autre part sur le système Xc cystine-glutamate, elle présente l'avantage d'avoir un double effet anti-épileptique et anti-tumoral. Par ailleurs, il a été récemment montré que son administration précoce au cours de l'épileptogénèse pourrait prévenir l'apparition d'une épilepsie clinique (Hatcher et al. 2020). En ce qui concerne le TMZ, un ajustement thérapeutique pourrait permettre d'accroître son efficacité et sa tolérance dans le traitement des gliomes. En effet, si le bumétanide permettait de contrebalancer son effet sur NKCC1, son adjonction dans les protocoles de chimiothérapie pourrait améliorer la qualité de vie des patients.

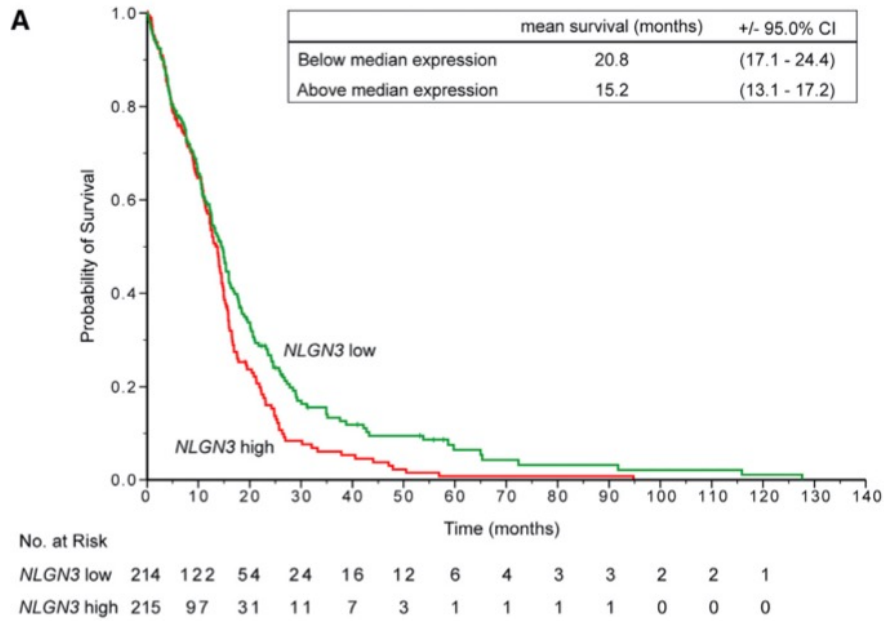


Figure 17 - Le niveau d'expression de la Neurologine-3 est inversement corrélé à la survie chez les patients présentant un glioblastome, d'après Venkatesh et al. 2015. Modèle stratifié sur le taux d'expression médian de NLGN3 dans 429 cas de glioblastomes. La survie globale moyenne décroît d'environ 5,6 mois chez les patients présentant une tumeur avec un taux d'expression de NLGN3 supérieur à la médiane ; $p < 0,05$ (test de log-rank).

6. CONCLUSION

L'épilepsie est une comorbidité majeure des gliomes diffus. Elle est le symptôme révélateur le plus fréquent dans le cas des gliomes de bas grade et affecte environ 50% des patients au cours de l'évolution de la tumeur quel que ce soit le type histologique. Les mécanismes qui sous-tendent son développement sont multiples, complexes, et encore incomplètement élucidés à ce jour. Cependant, l'ensemble des études confirment la genèse des activités épileptiques au sein de cortex péri-tumoral, à l'interface entre la tumeur en croissance et le tissu cérébral altéré. L'émergence des crises implique d'une part une transmission excitatrice excessive, en partie liée à la libération de glutamate par la tumeur elle-même, et d'autre part d'une transmission inhibitrice déficiente. Cette dernière résulte de modifications des concentrations ioniques intra- et extra-cellulaires conduisant à une dépolarisation du E_{GABA} et donc à des effets excitateurs du GABA. Cette étude a ainsi permis de montrer que la modulation d'activité des co-transporteurs KCC2 et NKCC1 dans le cortex péri-tumoral de patients présentant un gliome diffus favorise la genèse d'activités épileptiques en perturbant l'homéostasie du Cl^- et du K^+ .

BIBLIOGRAPHIE

- Adam, C, and K Mokhtari. 2011. “Tumeurs Du Système Nerveux Central. Classifications Histologiques et Topographiques, Épidémiologie.” *EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Neurologie, 17-205-A-10*, no. 15258: 10.
- Alvarado-Rojas, Catalina, Gilles Huberfeld, Michel Baulac, Stéphane Clemenceau, Stéphane Charpier, Richard Miles, Liset Menendez De La Prida, and Michel Le Van Quyen. 2015. “Different Mechanisms of Ripple-like Oscillations in the Human Epileptic Subiculum.” *Annals of Neurology* 77 (2): 281–90. <https://doi.org/10.1002/ana.24324>.
- Angelantonio, S. Di, E. Murana, S. Cocco, F. Scala, C. Bertollini, M. G. Molinari, C. Lauro, P. Bregestovski, C. Limatola, and D. Ragozzino. 2014. “A Role for Intracellular Zinc in Glioma Alteration of Neuronal Chloride Equilibrium.” *Cell Death and Disease* 5 (10): 1–10. <https://doi.org/10.1038/cddis.2014.437>.
- Avoli, M., and M. Barbarosie. 1999. “Interictal-Ictal Interactions and Limbic Seizure Generation.” *Revue Neurologique* 155 (6–7): 468–71. <https://doi.org/RN-07-1999-155-6-7-0035-3787-101019-ART7>.
- Bauchet, Luc, and Quinn T Ostrom. 2019. “Epidemiology and Molecular Epidemiology.” *Neurosurgery Clinics of North America* 30 (1): 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.08.010>.
- Bent, Martin J. Van Den, Hendrikus J. Dubbink, Yannick Marie, Alba A. Brandes, Martin J.B. Taphoorn, Pieter Wesseling, Marc Frenay, et al. 2010. “IDH1 and IDH2 Mutations Are Prognostic but Not Predictive for Outcome in Anaplastic Oligodendroglial Tumors: A Report of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group.” *Clinical Cancer Research* 16 (5): 1597–1604. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-2902>.
- Blauwblomme, Thomas, Elena Dossi, Christophe Pellegrino, Emmanuelle Goubert, Beatriz Gal Iglesias, Christian Sainte-Rose, Nathalie Rouach, Rima Nabbout, and Gilles Huberfeld. 2019. “Gamma-Aminobutyric Acidergic Transmission Underlies Interictal Epileptogenicity in Pediatric Focal Cortical Dysplasia.” *Annals of Neurology* 85 (2): 204–17. <https://doi.org/10.1002/ana.25403>.
- Blauwblomme, Thomas, Premysl Jiruska, and Gilles Huberfeld. 2014. *Mechanisms of Ictogenesis. International Review of Neurobiology*. Vol. 114. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-418693-4.00007-8>.

- Bonini, Francesca, Aileen McGonigal, Agnès Trébuchon, Martine Gavaret, Fabrice Bartolomei, Bernard Giusiano, and Patrick Chauvel. 2014. “Frontal Lobe Seizures: From Clinical Semiology to Localization.” *Epilepsia* 55 (2): 264–77. <https://doi.org/10.1111/epi.12490>.
- Breemen, Melanie S M van, Erik B Wilms, and Charles J Vecht. 2007. “Epilepsy in Patients with Brain Tumours: Epidemiology, Mechanisms, and Management.” *Lancet Neurology* 6 (5): 421–30. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(07\)70103-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(07)70103-5).
- Buckingham, Susan C., Susan L. Campbell, Brian R. Haas, Vedrana Montana, Stefanie Robel, Toyin Ogunrinu, and Harald Sontheimer. 2011. “Glutamate Release by Primary Brain Tumors Induces Epileptic Activity.” *Nature Medicine* 17 (10): 1269–74. <https://doi.org/10.1038/nm.2453>.
- Bush, Nancy Ann Oberheim, Susan M. Chang, and Mitchel S. Berger. 2017. “Current and Future Strategies for Treatment of Glioma.” *Neurosurgical Review* 40 (1): 1–14. <https://doi.org/10.1007/s10143-016-0709-8>.
- Cepeda, Carlos, Simon Levinson, Hiroki Nariai, Vannah Wila Yazon, Conny Tran, Joshua Barry, Katerina D. Oikonomou, et al. 2020. “Pathological High Frequency Oscillations Associate with Increased GABA Synaptic Activity in Pediatric Epilepsy Surgery Patients.” *Neurobiology of Disease* 134 (October 2019): 104618. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.104618>.
- Chang, Michael, Joshua A. Dian, Suzie Dufour, Lihua Wang, Homeira Moradi Chameh, Meera Ramani, Liang Zhang, Peter L. Carlen, Thilo Womelsdorf, and Taufik A. Valiante. 2018. “Brief Activation of GABAergic Interneurons Initiates the Transition to Ictal Events through Post-Inhibitory Rebound Excitation.” *Neurobiology of Disease* 109: 102–16. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.10.007>.
- Chen, Hao, Jonathon Judkins, Cheddhi Thomas, Meijing Wu, Laith Khoury, Carolina G. Benjamin, Donato Pacione, et al. 2017. “Mutant IDH1 and Seizures in Patients with Glioma.” *Neurology* 88 (19): 1805–13. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003911>.
- Chung, W. J. 2005. “Inhibition of Cystine Uptake Disrupts the Growth of Primary Brain Tumors.” *Journal of Neuroscience* 25 (31): 7101–10. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5258-04.2005>.
- Chvojka, Jan, Jan Kudlacek, Wei Chih Chang, Ondrej Novak, Filip Tomaska, Jakub Otahal, John G.R. Jefferys, and Premysl Jiruska. 2019. “The Role of Interictal Discharges in Ictogenesis — A Dynamical Perspective.” *Epilepsy and Behavior*, no. xxxx: 106591. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106591>.

- Cohen, Ivan, Vincent Navarro, Stéphane Clemenceau, Michel Baulac, and Richard Miles. 2002. "On the Origin of Interictal Activity in Human Temporal Lobe Epilepsy in Vitro." *Science* 298 (5597): 1418–21. <https://doi.org/10.1126/science.1076510>.
- Curio, Gabriel, Bruno-Marcel Mackert, Martin Burghoff, Roman Koetitz, Klaus Abraham-Fuchs, and Wolfgang Härer. 1994. "Localization of Evoked Neuromagnetic 600 Hz Activity in the Cerebral Somatosensory System." *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 91 (6): 483–87. [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(94\)90169-4](https://doi.org/10.1016/0013-4694(94)90169-4).
- Curtis, Marco De, and Massimo Avoli. 2016. "GABAergic Networks Jump-Start Focal Seizures." *Epilepsia* 57 (5): 679–87. <https://doi.org/10.1111/epi.13370>.
- Curtis, Marco de, Laura Librizzi, Laura Uva, and Vadym Gnatkovsky. 2019. "GABA A Receptor-Mediated Networks during Focal Seizure Onset and Progression in Vitro." *Neurobiology of Disease* 125 (November 2018): 190–97. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.007>.
- Darlix, Amélie, Sonia Zouaoui, Valérie Rigau, Faiza Bessaoud, Dominique Figarella-Branger, Hélène Mathieu-Daudé, Brigitte Trétarre, et al. 2016. "Epidemiology for Primary Brain Tumors: A Nationwide Population-Based Study." *Journal of Neuro-Oncology* 131 (3): 1–22. <https://doi.org/10.1007/s11060-016-2318-3>.
- Daumas-Duport, C, F Beuvon, P Varlet, and C Fallet-Bianco. 2000. "[Gliomas: WHO and Sainte-Anne Hospital Classifications]." *Annales de Pathologie* 20 (5): 413–28. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11084409>.
- Delpire, Eric, Aleksandra Baranczak, Alex G. Waterson, Kwangho Kim, Nathan Kett, Ryan D. Morrison, J. Scott Daniels, C. David Weaver, and Craig W. Lindsley. 2012. "Further Optimization of the K-Cl Cotransporter KCC2 Antagonist ML077: Development of a Highly Selective and More Potent in Vitro Probe." *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 22 (14): 4532–35. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.05.126>.
- Derchansky, M., S. S. Jahromi, M. Mamani, D. S. Shin, A. Sik, and P. L. Carlen. 2008. "Transition to Seizures in the Isolated Immature Mouse Hippocampus: A Switch from Dominant Phasic Inhibition to Dominant Phasic Excitation." *Journal of Physiology* 586 (2): 477–94. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.143065>.
- Dossi, Elena, Thomas Blauwblomme, Rima Nabbout, Gilles Huberfeld, and Nathalie Rouach. 2014. "Multi-Electrode Array Recordings of Human Epileptic Postoperative Cortical Tissue." *Journal of Visualized Experiments*, no. 92: 1–9. <https://doi.org/10.3791/51870>.
- Dzhala, Volodymyr, Guzel Valeeva, Joseph Glykys, Rustem Khazipov, and Kevin Staley. 2012. "Traumatic Alterations in GABA Signaling Disrupt Hippocampal Network Activity

- in the Developing Brain.” *Journal of Neuroscience* 32 (12): 4017–31. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5139-11.2012>.
- Englot, Dario J., Edward F. Chang, and Charles J. Veitch. 2016. *Epilepsy and Brain Tumors. Handbook of Clinical Neurology*. 1st ed. Vol. 134. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802997-8.00016-5>.
- Feyissa, Anteneh M., Gregory A. Worrell, William O. Tatum, Deependra Mahato, Benjamin H. Brinkmann, Steven S. Rosenfeld, Karim Refaey, Perry S. Bechtle, and Alfredo Quinones-Hinojosa. 2018. “High-Frequency Oscillations in Awake Patients Undergoing Brain Tumor-Related Epilepsy Surgery.” *Neurology* 90 (13): e1119–25. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000005216>.
- Fisher, Robert S., Carlos Acevedo, Alexis Arzimanoglou, Alicia Bogacz, J. Helen Cross, Christian E. Elger, Jerome Engel, et al. 2014. “ILAE Official Report: A Practical Clinical Definition of Epilepsy.” *Epilepsia* 55 (4): 475–82. <https://doi.org/10.1111/epi.12550>.
- Foffani, Guglielmo, Yoryani G. Uzcategui, Beatriz Gal, and Liset Menendez de la Prida. 2007. “Reduced Spike-Timing Reliability Correlates with the Emergence of Fast Ripples in the Rat Epileptic Hippocampus.” *Neuron* 55 (6): 930–41. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.07.040>.
- Frauscher, Birgit, Nicolás von Ellenrieder, Rina Zelman, Christine Rogers, Dang Khoa Nguyen, Philippe Kahane, François Dubeau, and Jean Gotman. 2018. “High-Frequency Oscillations in the Normal Human Brain.” *Annals of Neurology* 84 (3): 374–85. <https://doi.org/10.1002/ana.25304>.
- Gnatkovsky, Vadym, Laura Librizzi, Federica Trombin, and Marco De Curtis. 2008. “Fast Activity at Seizure Onset Is Mediated by Inhibitory Circuits in the Entorhinal Cortex in Vitro.” *Annals of Neurology* 64 (6): 674–86. <https://doi.org/10.1002/ana.21519>.
- González, Oscar C., Zahra Shiri, Giri P. Krishnan, Timothy L. Myers, Sylvain Williams, Massimo Avoli, and Maxim Bazhenov. 2018. “Role of KCC2-Dependent Potassium Efflux in 4-Aminopyridine-Induced Epileptiform Synchronization.” *Neurobiology of Disease* 109: 137–47. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.10.011>.
- Grand, Sylvie. 2019. “Imagerie Des Tumeurs Cérébrales Selon La Classification WHO 2016.” In .
- Groot, Marjolein De, Jaap C. Reijneveld, Eleonora Aronica, and Jan J. Heimans. 2012. “Epilepsy in Patients with a Brain Tumour: Focal Epilepsy Requires Focused Treatment.” *Brain* 135 (4): 1002–16. <https://doi.org/10.1093/brain/awr310>.
- Hamidi, Shabnam, and Massimo Avoli. 2015. “KCC2 Function Modulates in Vitro

- Ictogenesis.” *Neurobiology of Disease* 79: 51–58.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.04.006>.
- Hatcher, Asante, Kwanha Yu, Jochen Meyer, Isamu Aiba, Benjamin Deneen, and Jeffrey L. Noebels. 2020. “Pathogenesis of Peritumoral Hyperexcitability in an Immunocompetent CRISPR-Based Glioblastoma Model.” *Journal of Clinical Investigation* 130 (5): 2286–2300. <https://doi.org/10.1172/jci133316>.
- Hirsch, J F, J Buisson-Ferey, M Sachs, J C Scherrer, and Hirsch E T J. 1966. “Electrocorticogram and Unitary Activities with Expanding Lesions in Man.” *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 21: 417–28.
- Huberfeld, G., A. Trébuchon, L. Capelle, J. M. Badier, S. Chen, J. P. Lefaucheur, and M. Gavaret. 2017. “Preoperative and Intraoperative Neurophysiological Investigations for Surgical Resections in Functional Areas.” *Neurochirurgie* 63 (3): 142–49. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2016.10.008>.
- Huberfeld, G, and J Pallud. 2015. “Pour La Pratique L ’ Épilepsie Associée Aux Tumeurs Cérébrales,” 19–33.
- Huberfeld, Gilles, Liset Menendez De La Prida, Johan Pallud, Ivan Cohen, Michel Le Van Quyen, Claude Adam, Stéphane Clemenceau, Michel Baulac, and Richard Miles. 2011. “Glutamatergic Pre-Ictal Discharges Emerge at the Transition to Seizure in Human Epilepsy.” *Nature Neuroscience* 14 (5): 627–35. <https://doi.org/10.1038/nn.2790>.
- Huberfeld, Gilles, and Charles J. Veitch. 2016. “Seizures and Gliomas - Towards a Single Therapeutic Approach.” *Nature Reviews Neurology* 12 (4): 204–16. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2016.26>.
- Jiruska, Premysl, Catalina Alvarado-Rojas, Catherine A. Schevon, Richard Staba, William Stacey, Fabrice Wendling, and Massimo Avoli. 2017. “Update on the Mechanisms and Roles of High-Frequency Oscillations in Seizures and Epileptic Disorders.” *Epilepsia* 58 (8): 1330–39. <https://doi.org/10.1111/epi.13830>.
- Kelley, Matthew R., Tarek Z. Deeb, Nicholas J. Brandon, John Dunlop, Paul A. Davies, and Stephen J. Moss. 2016. “Compromising KCC2 Transporter Activity Enhances the Development of Continuous Seizure Activity.” *Neuropharmacology* 108: 103–10. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.04.029>.
- Kilb, W., A. Sinning, and H. J. Luhmann. 2007. “Model-Specific Effects of Bumetanide on Epileptiform Activity in the in-Vitro Intact Hippocampus of the Newborn Mouse.” *Neuropharmacology* 53 (4): 524–33. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2007.06.015>.
- Köhling, Rüdiger, Margherita D’Antuono, Ruba Benini, Philip de Guzman, and Massimo

- Avoli. 2016. "Hypersynchronous Ictal Onset in the Perirhinal Cortex Results from Dynamic Weakening in Inhibition." *Neurobiology of Disease* 87: 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.12.002>.
- Kwan, Patrick, Alexis Arzimanoglou, Anne T. Berg, Martin J. Brodie, W. Allen Hauser, Gary Mathern, Solomon L. Moshé, Emilio Perucca, Samuel Wiebe, and Jacqueline French. 2010. "Definition of Drug Resistant Epilepsy: Consensus Proposal by the Ad Hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies." *Epilepsia* 51 (6): 1069–77. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x>.
- la Prida, Liset Menendez de, and Gilles Huberfeld. 2019. "Inhibition and Oscillations in the Human Brain Tissue in Vitro." *Neurobiology of Disease* 125 (October 2018): 198–210. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.02.006>.
- Lambert, Isabelle, Eve Tramon-Negre, Stanislas Lagarde, Nicolas Roehri, Bernard Giusiano, Agnès Trebuchon-Da Fonseca, Romain Carron, Christian Georges Benar, Olivier Felician, and Fabrice Bartolomei. 2020. "Hippocampal Interictal Spikes during Sleep Impact Long-Term Memory Consolidation." *Annals of Neurology*. <https://doi.org/10.1002/ana.25744>.
- Lévesque, Maxime, and Massimo Avoli. 2019. "High-Frequency Oscillations and Focal Seizures in Epileptic Rodents." *Neurobiology of Disease* 124 (October 2018): 396–407. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.12.016>.
- Librizzi, Laura, Gabriele Losi, Iacopo Marcon, Michele Sessolo, Paolo Scalmani, Giorgio Carmignoto, and Marco De Curtis. 2017. "Interneuronal Network Activity at the Onset of Seizure-like Events in Entorhinal Cortex Slices." *Journal of Neuroscience* 37 (43): 10398–407. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3906-16.2017>.
- Louis, David N., Hiroko Ohgaki, Otmar D. Wiestler, Webster K. Cavenee, Peter C. Burger, Anne Jouvét, Bernd W. Scheithauer, and Paul Kleihues. 2007. "The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System." *Acta Neuropathologica* 114 (2): 97–109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>.
- Louis, David N., Arie Perry, Guido Reifenberger, Andreas von Deimling, Dominique Figarella-Branger, Webster K. Cavenee, Hiroko Ohgaki, Otmar D. Wiestler, Paul Kleihues, and David W. Ellison. 2016. "The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: A Summary." *Acta Neuropathologica* 131 (6): 803–20. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>.
- MacKenzie, Georgina, Kate K. O'Toole, and Jamie Maguire. 2016. "Compromised GABAergic Inhibition Contributes to Tumor-Associated Epilepsy." *Epilepsy Research* 126: 185–96. <https://doi.org/10.1016/j.eplesyres.2016.07.010>.

- Marcus, Hani J., Keri L.H. Carpenter, Stephen J. Price, and Peter J. Hutchinson. 2010. "In Vivo Assessment of High-Grade Glioma Biochemistry Using Microdialysis: A Study of Energy-Related Molecules, Growth Factors and Cytokines." *Journal of Neuro-Oncology* 97 (1): 11–23. <https://doi.org/10.1007/s11060-009-9990-5>.
- Meder, Jean François. 2016. *Neuro-Imagerie : Pathologie de l'encéphale*. Sauramps M. <https://www.livres-medicaux.com/neuro-imagerie-pathologies-de-l-encephale.html>.
- Mittal, S., D. Barkmeier, J. Hua, D. S. Pai, D. Fuerst, M. Basha, J. A. Loeb, and A. K. Shah. 2016. "Intracranial EEG Analysis in Tumor-Related Epilepsy: Evidence of Distant Epileptic Abnormalities." *Clinical Neurophysiology* 127 (1): 238–44. <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.06.028>.
- Molinaro, Annette M., Jennie W. Taylor, John K. Wiencke, and Margaret R. Wrensch. 2019. "Genetic and Molecular Epidemiology of Adult Diffuse Glioma." *Nature Reviews Neurology* 15 (July). <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0220-2>.
- Naugle, David K, Timothy D Duncan, and Guerard P Grice. 2004. "Oligoastrocytoma." *Tumors and Cancers: Central and Peripheral Nervous Systems* 24 (2): 53–58. <https://doi.org/10.1201/9781315120522>.
- Noh, Ji Hyun, Byoung Joo Gwag, and Jun Mo Chung. 2006. "Underlying Mechanism for NMDA Receptor Antagonism by the Anti-Inflammatory Drug, Sulfasalazine, in Mouse Cortical Neurons." *Neuropharmacology* 50 (1): 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2005.07.020>.
- Olsen, Michelle L., and Harald Sontheimer. 2008. "Functional Implications for Kir4.1 Channels in Glial Biology: From K⁺buffering to Cell Differentiation." *Journal of Neurochemistry* 107 (3): 589–601. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05615.x>.
- Ostrom, Quinn T., Luc Bauchet, Faith G. Davis, Isabelle Deltour, James L. Fisher, Chelsea Eastman Langer, Melike Pekmezci, et al. 2014. "The Epidemiology of Glioma in Adults: A State of the Science Review." *Neuro-Oncology* 16 (7): 896–913. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou087>.
- Ostrom, Quinn T, Haley Gittleman, Lindsay Stetson, Selene Virk, and Jill S Barnholtz-sloan. 2018. "Epidemiology of Intracranial Gliomas." *Progress in Neurological Surgery* 30: 1–11. <https://doi.org/10.1159/000464374>.
- Otsu, Yo, Florian Donneger, Eric J Schwartz, and Jean Christophe Poncer. 2020. "Cation–Chloride Cotransporters and the Polarity of GABA Signalling in Mouse Hippocampal Parvalbumin Interneurons." *The Journal of Physiology* 598 (10): 1865–80. <https://doi.org/10.1113/JP279221>.

- Pallud, J., and E. Dezamis. 2017. "Functional and Oncological Outcomes Following Awake Surgical Resection Using Intraoperative Cortico-Subcortical Functional Mapping for Supratentorial Gliomas Located in Eloquent Areas." *Neurochirurgie* 63 (3): 208–18. <https://doi.org/10.1016/j.neuchi.2016.08.003>.
- Pallud, J, Pascale Varlet, Bertrand Devaux, S Geha, M Badoual, C Deroulers, Philippe Page, Edouard Dezamis, C Daumas-Duport, and F-X Roux. 2010. "Diffuse Low-Grade Oligodendrogliomas Extend beyond MRI-Defined Abnormalities." *Neurology* 74 (21): 1724–31. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181e04264>.
- Pallud, Johan, Etienne Audureau, Marie Blonski, Nader Sanai, Luc Bauchet, Denys Fontaine, Emmanuel Mandonnet, et al. 2014. "Epileptic Seizures in Diffuse Low-Grade Gliomas in Adults." *Brain* 137 (2): 449–62. <https://doi.org/10.1093/brain/awt345>.
- Pallud, Johan, Laurent Capelle, and Gilles Huberfeld. 2013. "Tumoral Epileptogenicity: How Does It Happen?" *Epilepsia* 54 (SUPPL. 9): 30–34. <https://doi.org/10.1111/epi.12440>.
- Pallud, Johan, and Edouard Dezamis. 2017. "Surgical Resection in Eloquent Brain Regions - Introduction." *Neurochirurgie* 63 (3): 115–16.
- Pallud, Johan, and Guy M. McKhann. 2019. "Diffuse Low-Grade Glioma-Related Epilepsy." *Neurosurgery Clinics of North America* 30 (1): 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.09.001>.
- Pallud, Johan, Michel Le Van Quyen, Franck Bielle, Christophe Pellegrino, Geneviève Chazal, Bertrand Devaux, and Claudio Rivera. 2014. "Cortical GABAergic Excitation Contributes to Epileptic Activities around Human Glioma." *Science Translational Medicine* 6 (244): 1–27. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008065.Cortical>.
- Rigau, Valérie, Sonia Zouaoui, Hélène Mathieu-Daudé, Amélie Darlix, Aurélie Maran, Brigitte Trétarre, Faiza Bessaoud, et al. 2011. "French Brain Tumor Database: 5-Year Histological Results on 25 756 Cases." *Brain Pathology* 21 (6): 633–44. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2011.00491.x>.
- Robert, Stephanie M., and Harald Sontheimer. 2014. "Glutamate Transporters in the Biology of Malignant Gliomas." *Cellular and Molecular Life Sciences* 71 (10): 1839–54. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1521-z>.
- Schevon, Catherine A., Steven Tobochnik, Tahra Eissa, Edward Merricks, Brian Gill, R. Ryley Parrish, Lisa M. Bateman, Guy M. McKhann, Ronald G. Emerson, and Andrew J. Trevelyan. 2019. "Multiscale Recordings Reveal the Dynamic Spatial Structure of Human Seizures." *Neurobiology of Disease* 127 (March): 303–11. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.03.015>.

- Smits, Anja, and Asgeir S Jakola. 2018. "Clinical Presentation, Natural History, and Prognosis of Diffuse Low-Grade Gliomas." *Neurosurgery Clinics of North America* 30 (1): 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2018.08.002>.
- Sørensen, Mai Froberg, Sólborg Berglind Heimisdóttir, Mia Dahl Sørensen, Casper Schau Mellegaard, Helle Wohlleben, Bjarne Winther Kristensen, and Christoph Patrick Beier. 2018. "High Expression of Cystine–Glutamate Antiporter XCT (SLC7A11) Is an Independent Biomarker for Epileptic Seizures at Diagnosis in Glioma." *Journal of Neuro-Oncology* 138 (1): 49–53. <https://doi.org/10.1007/s11060-018-2785-9>.
- Tantillo, Elena, Eleonora Vannini, Chiara Cerri, Cristina Spalletti, Antonella Colistra, Chiara Maria Mazzanti, Mario Costa, and Matteo Caleo. 2020. "Differential Roles of Pyramidal and Fast-Spiking, GABAergic Neurons in the Control of Glioma Cell Proliferation." *Neurobiology of Disease* 141 (April): 104942. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2020.104942>.
- Tran, Teresa A., Susan S. Spencer, Manoucher Javidan, Steven Pacia, David Marks, and Dennis D. Spencer. 1997. "Significance of Spikes Recorded on Intraoperative Electrocorticography in Patients with Brain Tumor and Epilepsy." *Epilepsia* 38 (10): 1132–39. <https://doi.org/10.1111/j.1528-1157.1997.tb01203.x>.
- Venkataramani, Varun, Dimitar Ivanov Tanev, Christopher Strahle, Alexander Studier-Fischer, Laura Fankhauser, Tobias Kessler, Christoph Körber, et al. 2019. "Glutamatergic Synaptic Input to Glioma Cells Drives Brain Tumour Progression." *Nature* 573 (7775): 532–38. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1564-x>.
- Venkatesh, Humsa S., Tessa B. Johung, Viola Caretti, Alyssa Noll, Yujie Tang, Surya Nagaraja, Erin M. Gibson, et al. 2015. "Neuronal Activity Promotes Glioma Growth through Neuroligin-3 Secretion." *Cell* 161 (4): 803–16. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.04.012>.
- Venkatesh, Humsa S., Wade Morishita, Anna C. Geraghty, Dana Silverbush, Shawn M. Gillespie, Marlene Arzt, Lydia T. Tam, et al. 2019. "Electrical and Synaptic Integration of Glioma into Neural Circuits." *Nature* 573 (7775): 539–45. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1563-y>.
- Viitanen, Tero, Eva Ruusuvuori, Kai Kaila, and Juha Voipio. 2010. "The K⁺-Cl⁻ Cotransporter KCC2 Promotes GABAergic Excitation in the Mature Rat Hippocampus." *Journal of Physiology* 588 (9): 1527–40. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.181826>.
- Weiss, Shennan A., Richard Staba, Anatol Bragin, Karen Moxon, Michael Sperling, Massimo Avoli, and Jerome Engel. 2019. "Interneurons and Principal Cell Firing in Human Limbic Areas at Focal Seizure Onset." *Neurobiology of Disease* 124 (October 2018): 183–88.

- <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.11.014>.
- Weller, Michael, Roger Stupp, and Wolfgang Wick. 2012. "Epilepsy Meets Cancer: When, Why, and What to Do about It?" *The Lancet Oncology* 13 (9): e375–82. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70266-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70266-8).
- Witt Hamer, Philip C. De, Santiago Gil Robles, Aeilko H. Zwinderman, Hugues Duffau, and Mitchel S. Berger. 2012. "Impact of Intraoperative Stimulation Brain Mapping on Glioma Surgery Outcome: A Meta-Analysis." *Journal of Clinical Oncology* 30 (20): 2559–65. <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.4818>.
- Ye, Zu Cheng, and Harald Sontheimer. 1999. "Glioma Cells Release Excitotoxic Concentrations of Glutamate." *Cancer Research* 59 (17): 4383–91.
- Zaveri, Hitten P., Björn Schelter, Catherine A. Schevon, Premysl Jiruska, John G.R. Jefferys, Gregory Worrell, Andreas Schulze-Bonhage, et al. 2020. "Controversies on the Network Theory of Epilepsy: Debates Held during the ICTALS 2019 Conference." *Seizure* 78 (January): 78–85. <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2020.03.010>.
- Zhu, Wen, Gulnaz Begum, Kelli Pointer, Paul A. Clark, Sung Sen Yang, Shih Hua Lin, Kristopher T. Kahle, John S. Kuo, and Dandan Sun. 2014a. "WNK1-OSR1 Kinase-Mediated Phospho-Activation of Na⁺-K⁺-2Cl⁻ Cotransporter Facilitates Glioma Migration." *Molecular Cancer* 13 (1): 1–15. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-13-31>.
- Zhu, Wen, Gulnaz Begum, Kelli Pointer, Paul A Clark, Sung-sen Yang, Shih-hua Lin, Kristopher T Kahle, John S Kuo, and Dandan Sun. 2014b. "Migration," 1–15.

LISTE DES ABREVIATIONS

4AP : 4-aminopyridine
AMPA : acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AQP4 : canal hydrique aquaporine 4
BDNF : *brain-derived neurotrophic factor*
 Ca^{2+} : calcium
 Cl^- : chlore
D2HG : D-2-hydroxyglutarate
 K^+ : potassium
KCC2 : co-transporteur K^+/Cl^- 2
LCR : liquide céphalo-rachidien
LFP : potentiel de champ local
ID : décharge ictale
IID : décharge interictale
 Mg^{2+} : magnésium
MUA : activité multi-unitaire
 Na^+ : sodium
NKCC1 : co-transporteur $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ 1
NLGN3 : neuroligine-3
NMDA : N-méthyl-D-aspartate
NOS : *Not otherwise specified*
PID : décharge pré-ictale
SAS : sulfasalazine
TMZ : témozolomide
VEGF : *vascular endothelial growth factor*

TABLE DES FIGURES

Figure 1 – Classification OMS des gliomes diffus intégrant les données histopathologiques et moléculaires d’après Torres et al. 2019.	6
Figure 2 – Exemple d'évolution d'un gliome de bas grade frontal gauche, d'après Pallud et al. 2014.	14
Figure 3 – Survie globale et survie sans progression maligne en fonction de la présence ou de l'absence d'épilepsie, d'après Pallud et al. 2014.	16
Figure 4 – Prévalence des crises épileptiques contrôlées et résistantes aux traitements anti-épileptiques, d’après Pallud et al. 2014.	19
Figure 5 – Enregistrements en transcorticographie radiaire et en dérivation monopolaire dans un cas de gliome temporal superficiel, d'après Hirsch et al. 1966.	23
Figure 6 – Les activités interictales sont générées dans le cortex infiltré par des cellules gliomateuses, d'après Pallud et al. 2014.	24
Figure 7 – La signalisation glutamatergique favorise l'oncogenèse et l'épileptogenèse, d'après Huberfeld et al. 2016.	27
Figure 8 – La dysrégulation du chlore intracellulaire et ses conséquences sur la transmission GABAergique favorisent l'oncogenèse et l'épileptogenèse, d'après Huberfeld et al. 2016.	31
Figure 9 – Activités épileptiques <i>in vitro</i>.	38
Figure 10 – Matériel et procédure pour la préparation de tranches de tissu cérébral, d'après Dossi et al. 2014.	51
Figure 11 – Enregistrement des tranches de cortex en MEA, d'après Dossi et al. 2014.	52
Figure 12 – Organisation des crises.	55
Figure 13 – Effet des antagonistes de KCC2 sur les décharges ictales.	57
Figure 14 – Effet du renforcement de KCC2 sur les décharges ictales.	58
Figure 15 – Effet du renforcement de NKCC1 sur les décharges ictales.	59
Figure 16 – Effet de la SAS sur les décharges interictales et les décharges ictales.	60
Figure 17 - Synthèse des perturbations de l'homéostasie du Cl⁻ et du K⁺ au sein du cortex péritumoral.	63
Figure 18 - Le niveau d'expression de la Neuroligine-3 est inversement corrélé à la survie chez les patients présentant un glioblastome, d’après Venkatesh et al. 2015.	70

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 – La classification 2016 des gliomes diffus de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) d'après Louis et al. 2016.....	4
Tableau 2 – La gradation des gliomes diffus selon l'OMS 2016 d'après Louis et al. 2016. 5	5
Tableau 3 - Principales caractéristiques des gliomes cérébraux.....	8-9
Tableau 4 – Tissus de l'étude.....	50

Titre : Épilepsie associée aux gliomes cérébraux : revue générale et identification expérimentale de mécanismes de déclenchement des crises.

Résumé :

Les tumeurs cérébrales, et en particulier les gliomes diffus cérébraux, sont hautement épileptogènes. Des travaux épidémiologiques et expérimentaux indiquent que la croissance tumorale et l'épileptogénicité sont associés, parfois de manière contradictoire : les tumeurs, dans une gamme donnée de croissance, sont plus épileptogènes ; la survenue d'une épilepsie est associée à une amélioration du pronostic oncologique ; l'augmentation de l'activité neuronale favorise la croissance tumorale ; des mécanismes communs, impliquant principalement la signalisation excitatrice glutamatergique et la signalisation inhibitrice GABAergique contribuent aux processus épileptiques et oncologiques. Ce travail vise à mieux cibler deux acteurs clés de l'émergence des crises : la dynamique de concentration du K^+ extracellulaire et du Cl^- neuronal, sous-tendant respectivement l'excitabilité locale et la polarité inhibitrice *versus* excitatrice de la signalisation GABAergique. Ces travaux ont été menés *ex vivo* au sein du tissu cortical humain épileptique péri-tumoral. Ils se sont focalisés sur les co-transporteurs Cl^-/K^+ KCC2 et NKCC1 contrôlant les concentrations de Cl^- et de K^+ , dont l'expression est altérée dans le tissu épileptique, conduisant à des effets excitateurs du GABA. J'ai testé, dans les conditions dynamiques d'initiation des crises les effets de la modulation de KCC2 et NKCC1. Les résultats indiquent qu'une interaction complexe et dynamique entre concentration extracellulaire en K^+ et intracellulaire en Cl^- est un phénomène clé du déclenchement des crises, majoré par les remaniements du tissu épileptique, ouvrant de nouvelles perspectives thérapeutiques.

Mots clés : épilepsie, gliomes diffus, ictogénèse, NKCC1, KCC2.

Titre en anglais : Glioma-related epilepsy : general review and experimental identification of seizures triggers mechanisms.

Abstract :

Brain tumors, and more particularly diffuse gliomas, are highly epileptogenic. Epidemiologic and experimental studies point that tumor growth and epileptogenesis are associated, sometimes in a contradictory manner: tumors with a specific growth pattern are more epileptogenic; epilepsy occurrence is associated with an improved oncologic outcome; increased neuronal activity promotes tumoral growth; common mechanisms mainly involving glutamatergic excitatory signalling and GABAergic inhibitory signalling contribute to both epileptic and oncologic process. This study aims at better understanding two major protagonists involved in seizures initiation: extracellular K^+ and neuronal Cl^- concentrations dynamics that respectively underlie local excitability and inhibitory *versus* excitatory GABAergic signalling polarity. These experiments were conducted *ex vivo* in peritumoral epileptic human cortex. They focused on the KCC2 and NKCC1 Cl^-/K^+ cotransporters that regulate Cl^- and K^+ concentrations. Their expression is altered in epileptic tissue leading to excitatory GABA effect. I have tested the impact of their modulation in dynamical conditions at seizures emergence. The results show that dynamical and complex interactions between extracellular K^+ and intracellular Cl^- concentrations is a key phenomenon of seizures occurrence. This phenomenon is increased by basal changes in epileptic tissue, which opens new therapeutic perspectives.

Keywords : epilepsy, glioma, ictogenesis, NKCC1, KCC2

Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'École de Médecine
75270 Paris cedex 06